

11. Шахламов В. А., Сороковой В. И. Реакция клеток на гипоксию // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии.— 1983.— 85, № 7.— С. 12—25.
12. Chien K. R., Abrams J. Prevention by chlorpromazine of ischemic liver death // Amer. J. Pathol.— 1977.— 88, N 6.— P. 539—558.
13. Van den Bosch H. Intracellular phospholipase A // Biochim. et biophys. acta.— 1980.— 604, N 2.— P. 191—246.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 08.12.87

УДК 616.155.2:616—001.8(076.5):616.155—2—005.7

Агрегационная способность тромбоцитов при острой гипоксии у кроликов и патогенетическая профилактика тромбоэмболических осложнений

В. В. Баканская

Острая гипоксия — чрезвычайно опасное для жизни человека и животных состояние. Она может сопровождаться развитием гиперкоагуляции крови и тромбоэмболическими осложнениями [1—3, 19], определяющими тяжесть и исход заболевания. В результате наших предыдущих исследований [4] установлено возникновение тромботической ситуации при острой гипоксии III степени у кроликов, характеризующейся повышением прокоагулянтной активности крови, снижением антикоагулянтной и фибринолитической активности (ФАК).

Тромбообразование, как правило, начинается с адгезии и агрегации тромбоцитов (АТ). Последнему способствует появление чужеродной поверхности, а также тромбоцитагрегирующих веществ (ТАВ), таких, как АДФ, катехоламины, тромбин, серотонин, коллаген и др. В регуляции АТ большую роль играет тромбоксан A_2 , который вырабатывается в тромбоцитах, стимулирует агрегацию и обладает вазоконстрикторным действием. Мембраны агрегированных тромбоцитов приобретают новые физико-химические свойства, благоприятствующие активации и взаимодействию факторов свертывания крови (СК). Вначале АТ носит обратимый характер — тромбоцитарные агрегаты могут подвергаться дезагрегации и уноситься кровотоком. Физиологическим стимулятором тромбоцитарной дезагрегации является простациклин, он же простагландин I_2 , который синтезируется из арахидоновой кислоты в здоровой стенке сосудов. Простациклин обладает вазодилаторными свойствами [18]. В дальнейшем под действием тромбина АТ становится необратимой, которая сопровождается высвобождением гиалуроната, АДФ и вазоактивных веществ. В результате воздействия этими веществами формируется тромбоцитарный тромб [8]. Нарушение тромбоксан-простациклинового баланса предопределяет взаимоотношение тромбоцитов под воздействием ТАВ.

Агрегационная способность тромбоцитов значительно определяет состояние тромбоцитарного звена при гемокоагуляции. Повышенная способность тромбоцитов к агрегации и нарушение их дезагрегации являются факторами, способствующими тромбообразованию. Исследование функциональной активности тромбоцитов наряду с плазменной коагуляцией помогает диагностике системы гемостаза и выбору средств для предупреждения тромбоэмболических осложнений.

Задача настоящей работы — изучение агрегационной способности тромбоцитов и гемокоагуляционного гемостаза при острой гипоксической гипоксии у кроликов и возможностей патогенетической профилактики обнаруженных изменений.

Исследование, выполненное на 24 кроликах-самцах массой 2,5—3,0 кг, состояло из двух серий. В первой — изучали агрегационную способность тромбоцитов и систему гемокоагуляции у контрольных животных в условиях нормоксии и острой гипоксии. Эти кролики получали в течение 3 сут 0,9 %-ный раствор хлорида натрия (5 мл на 1 кг, внутривенно и 2,5—3,0 мл, внутримышечно). Исследование проводили через 1 ч после последнего введения препаратов. Кровь для изучения агрегационной способности тромбоцитов брали, пунктируя краевую вену уха силиконизированной иглой. В силиконизированную микропипетку, содержащую 0,02 мл 3,8 %-ного раствора цитрата натрия, набирали до метки 0,2 свободновытекающей крови. Стабилизированную кровь из пипетки выливали в силиконизированную микропробирку. Агрегацию тромбоцитов определяли методом фазово-контрастной микроскопии [5]. Для оценки результатов были использованы следующие константы.

1. h_1 — мера АТ через 1 мин после введения в кровь ТАВ, выраженная в процентах разницы между исходным числом тромбоцитов, принятым за 100 %, и числом тромбоцитов через 1 мин после введения в кровь ТАВ. Исходное число тромбоцитов подсчитывали в камере Горяева. В качестве ТАВ использовали АДФ (конечная концентрация $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

2. $h_{\max}$ — максимальная АТ, выраженная в процентах разницы между исходным числом тромбоцитов, принятым за 100 %, и их минимальным числом после введения ТАВ.

3. $t_{\max}$ — время наступления максимальной агрегации тромбоцитов.

4. $t_{\text{дезагр}}$ — время начала дезагрегации тромбоцитов.

5. $h_{\text{дезагр}}$ — мера дезагрегации тромбоцитарных агрегатов, выраженная в процентах разницы между максимальной агрегацией и агрегацией через 25 мин после введения ТАВ.

Исследование агрегационной способности тромбоцитов проводили через 1, 3, 6, 10, 15 и 25 мин после добавления ТАВ. О состоянии системы гемокоагуляции судили по показателям тромбозастрограммы (ТЭГ), записанной с помощью аппарата «Тромб-2». Константы ТЭГ, использованные нами для оценки результатов, детально описаны ранее [4]. Для характеристики антикоагулянтной активности крови исследовали содержание свободного гепарина протаминсульфатным методом [21], фибринолитическую активность — методом Горшковой и Ломазовой [6]. После этого кроликов подвергали действию острой гипоксии «подъемом» в барокамере на «высоту» 6500 м на 1 ч. Скорость «подъема» и «спуска» составляла 20 м/с. Температура в камере была постоянной (+19—20 °C). Сразу после извлечения кролика из барокамеры исследовали агрегационную способность тромбоцитов и систему гемокоагуляции. Проанализировав полученные результаты, во второй серии исследований изучали возможности предупреждения обнаруженных изменений предварительным внутривенным введением простагландина (ПГИ₂, Таллин) в дозе 100 мкг/кг 10 % препарата декстрана — реоглюмана молекулярной массой $40\,000 \pm 10\,000$ (5 мл) и внутримышечным введением никотиновой кислоты (10 мг). Препараты вводили в течение 3 сут. Исследовали влияние введенных препаратов на систему гемокоагуляции и агрегационную способность тромбоцитов в условиях нормоксии и острой гипоксии.

Использование комплекса указанных препаратов для профилактики тромбоэмболических осложнений при острой гипоксии было обусловлено их патогенетическим значением в регуляции агрегатного состояния крови. Простагландин использовали для предупреждения чрезмерной АТ и нормализации дезагрегации [7, 9, 18]; реоглюман — для нормализации реологических свойств крови, снижения агрегационной способности форменных элементов крови, усиления гемодинамики и активации микроциркуляции; никотиновая кислота — для ингибирования синтеза тромбосина в тромбоцитах и усиления фибринолитической активности крови [2, 15].

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что острая гипоксия оказывает существенное влияние (табл. 1) на агрегационную способность тромбоцитов и их число. Прежде всего следует отметить, что у всех кроликов наблюдалось выраженное повышение

числа тромбоцитов в период их агрегационная способность (стандарты h_1 ($P < 0,05$), и на агрегации (в 90 % опытов при гипоксии теряли эту способность), потенциала крови.

Обнаруженные изменения в работе звена системы гемокоагуляции на вероятность возникновения и развития патологических процессов предопределяют пути патологических изменений. Мы полагаем, что основные механизмы нарушения их дезагрегации — простагландин в сосудистой стенке, стимулятором этого процесса является нарушение баланса простагландин-тромбоксан. Простагландин предтромботического состояния [1]. Острая гипоксия также способствует созданию во время гипоксии между выработкой простагландина и тромбоксана. Следует отметить, что при острой гипоксии снижается выработка простагландина, что приводит к дистрофическим изменениям в системе гемокоагуляции вследствие нарушения синтеза в тромбоцитах факторов плазминогена и антифибринолитических веществ, что приводит к тромбозу.

Реакция кроликов на острую гипоксию, которую животные тяжело переносят (судороги определенных групп мышц, запрокидывание головы назад) и тяжелая острая гипоксия, приводящая к судорогам и гибели животных от тромбоза легочных артерий, и противосвертывающей системы, что отражено в табл. 2 и 3. Анализ результатов позволяет отметить, что повышение агрегационной способности крови, характеризующейся увеличением амплитуды — mA и угла — u — с повышенной свертываемостью крови, гиперкоагулянтной и фибринолитической депрессии противосвертывающей системы, что способствует возникновению тромбоза.

Внутривенное введение реоглюмана и никотиновой кислоты снижали содержание свободного гепарина, что вызывало гипокоагулирующее действие (ТЭГ) на систему СК и увеличивали

Таблица 1. Агрегационная способность тромбоцитов

Условие опыта	Число тромбоцитов в поле зрения
Контроль	163,0
Гипоксия	290,0
Введение адаптогенов	193,0
Гипоксия на фоне введения адаптогенов	219,0

* Здесь и далее в таблицах — различия значимы.

числа тромбоцитов в периферической крови. Кроме того, повышалась их агрегационная способность, о чем свидетельствует увеличение константы h_1 ($P < 0,05$), и нарушалась способность тромбоцитов к дезагрегации (в 90 % опытов при острой гипоксии тромбоциты полностью теряли эту способность), что указывает на повышение тромбогенного потенциала крови.

Обнаруженные изменения свидетельствуют о нарушении тромбоцитарного звена системы гемостаза — одного из существенных тестов на вероятность возникновения тромбоза при острой гипоксии, и предопределяют пути патогенетической профилактики этих нарушений. Мы полагаем, что основная причина повышения агрегации тромбоцитов и нарушения их дезагрегации связана с уменьшением синтеза простациклина в сосудистой стенке, который является физиологическим стимулятором этого процесса [18]. В литературе имеются сведения о нарушении баланса простациклин-тромбоксановой системы и развитии предтромботического состояния у животных при стрессовых ситуациях [1]. Острая гипоксия также является одной из разновидностей стресса, при котором создаются все условия для возникновения дисбаланса между выработкой простациклина и тромбоксана. Прежде всего следует отметить, что при острой гипоксии нарушается энергетический обмен, снижается выработка АТФ и креатинфосфата [17], возможны дистрофические изменения эндотелия сосудов, снижение их тромборезистентности вследствие нарушения выработки простациклина, активаторов плазминогена и антитромбина III [9]. В возникновении дисбаланса между простациклином и тромбоксаном существенную роль играет тромбоцитоз.

Реакция кроликов на действие гипоксии не была однозначной. Некоторые животные тяжело переносили действие гипоксии, наблюдались судороги определенных групп мышц шеи (кролики запрокидывали голову назад) и тяжелая одышка. У одного кролика развились тонические судороги и он погиб через 5 мин после извлечения из барокамеры от тромбоза легочных сосудов. Изменение показателей свертывающей и противосвертывающей систем крови при острой гипоксии отражено в табл. 2 и 3. Анализируя представленные результаты, следует отметить, что повышение агрегационной способности тромбоцитов и нарушение их дезагрегации сочетались с повышением свертывания крови, характеризующейся уменьшением времени реакции — константы τ и общего свертывания крови — константы T , увеличением максимальной амплитуды — mA и угловой константы — $\angle \alpha$ ($P < 0,05$). Наряду с повышенной свертываемостью крови наблюдалось снижение антикоагулянтной и фибринолитической активности, что свидетельствует о депрессии противосвертывающей системы крови [12] и может способствовать возникновению тромбоэмболических осложнений.

Внутривенное введение простациклина и реоглюмана и внутримышечное введение никотиновой кислоты в условиях нормоксии увеличивали содержание свободного гепарина в крови, повышали ФАК, оказывали гипокоагулирующее влияние (увеличивались константы τ , K ТЭГ) на систему СК и увеличивали время максимальной агрегации и

Таблица 1. Агрегационная способность тромбоцитов ($M \pm m$)

Условие опыта	Число тромбоцитов в 1 л, $1 \cdot 10^9$	h_1 , %	$h_{\max}$, %	$h_{\text{дезагр}}$, %
Контроль	$163,0 \pm 6,3$	$25,0 \pm 2,6$	$55,0 \pm 5,2$	$32,0 \pm 3,1$
Гипоксия	$290,0 \pm 22,0^*$	$33,0 \pm 2,1^*$	$61,0 \pm 3,8$	дезагр. отс.
Введение адаптогенов	$193,0 \pm 20,0$	$23,0 \pm 2,9$	$62,0 \pm 4,1$	$30,0 \pm 3,4$
Гипоксия на фоне введения адаптогенов	$219,0 \pm 23,0$	$26,0 \pm 3,1$	$56,0 \pm 3,7$	$31,0 \pm 2,4$

* Здесь и далее в таблицах — различия достоверны ($P < 0,05$)

Таблица 2. Состояние системы гемокоагуляции (по показателям тромбоэластограммы, $M \pm m$)

Условия опыта	r	K	r+K	mA	T	La, °
Контроль	58,3±3,0	25,0±2,2	83,8±4,4	61,0±1,3	197,0±5,7	13,0±1,1
Гипоксия	30,0±2,1*	19,0±2,3*	49,0±3,5*	70,0±0,7*	150,0±3,7*	25,0±1,4*
Введение адапто- генов	81,0±6,4*	43,0±2,6*	124,0±8,4*	51,0±2,8*	236,0±7,2*	9,0±0,4*
Гипоксия на фоне введения адап- тогенов	57,0±4,4	41,0±5,1*	98,0±6,6*	57,0±1,9	200,0±6,8	12,0±0,9

Таблица 3. Состояние системы гемокоагуляции (по показателям коагулограммы, $M \pm m$)

Условие опыта	Концентрация фибриногена, г/л	Фибриноли- тическая ак- тивность, %	Свободный гепарин, с	Время рекаль- цификации, с	Протромби- новая актив- ность, с
Контроль	0,26±0,02	42,5±3,9	7,1±0,26	60,0±2,0	18,0±0,4
Гипоксия	0,39±0,03*	26,0±4,0*	3,8±0,4*	41,0±2,2*	14,2±0,3*
Введение адапто- генов	0,24±0,02	66,0±2,8*	8,6±0,3*	82,0±2,6*	22,0±0,2*
Гипоксия на фоне введения адапто- генов	0,23±0,02	44,0±3,9	7,3±0,5	63,0±0,4	18,4±0,5

деагрегации тромбоцитов ($P < 0,05$). Острая гипоксия у кроликов, получавших предварительно комплекс препаратов, не сопровождалась повышенной агрегационной способностью тромбоцитов, хотя их число было несколько повышено, и гиперкоагуляцией крови. Все показатели ТЭГ и коагулограммы, за исключением константы K, были близки к контролю. Константа K была увеличена, что указывает на замедление второй стадии свертывания крови — стадии образования тромбина, однако время общего свертывания крови не было изменено. Противосвертывающая активность была адекватна свертывающей.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что комплексное применение простациклина, реоглюмана и никотиновой кислоты предупреждает повышение агрегационной способности тромбоцитов, нормализует их деагрегацию, предупреждает развитие гиперкоагуляции крови, сохраняет динамическое равновесие между свертывающей и противосвертывающей системами при острой гипоксии у кроликов. Каждый из применяемых веществ имеет свой механизм действия на отдельные звенья системы гемостаза, а их суммарный эффект оказывает влияние на сосудистотромбоцитарное и гемокоагуляционное звенья системы гемостаза.

Исследуемый нами метод профилактики тромбоэмболических осложнений при острой гипоксии можно считать патогенетически обоснованным, так как он обеспечивает коррекцию реологических свойств крови, агрегационной способности тромбоцитов и системы гемокоагуляции, регулируя адекватное взаимодействие свертывающей и фибринолитической активностей. Высокая эффективность комбинированного применения простациклина, реоглюмана и никотиновой кислоты обусловлена не только непосредственным воздействием на систему гемостаза, но и улучшением других систем, определяющих регуляцию агрегатного состояния крови.

Выводы

1. Острая гипоксическая гипоксия, усиливает их агрегацию тромбоцитарных агрегатов, подавляет антисвертывающую активность кроликов.

2. Предварительное введение реоглюмана и никотиновой кислоты, повышающей коагуляции крови, повышает у кроликов при острой гипоксии специфической профилактики.

AGGREGATION ABILITY OF THROMBOCYTES IN RABBITS WITH ACUTE HYPOTENSION OF THROMBOEMBOLIC COMPLICATIONS

Bakanskaya V. V.

Experiments on rabbits have revealed that acute hypoxia increases the number of thrombocytes, intensifies the aggregation of thrombocytes, and the appearance of the thromboembolic complications. The administration of prostacyclin and nicotinic acid (in combination) before hypoxia reduces the disturbances in the hemostatic system (preliminary administration of prostacyclin and nicotinic acid).

Medical Institute,
Ministry of Public Health of the USSR

1. Алиев М. А., Лемешенко В. А. Препараты простациклина-тромбоксана. Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1981. — № 4. — С. 371—374.
2. Андреев Г. В., Мигалина Л. П. Препараты простациклина и никотиновой кислоты. — 1981. — № 4. — С. 371—374.
3. Баканская В. В. Влияние острой гипоксии на пути ее коррекции в крови и адаптации и компенсации. — 1981. — С. 14—15.
4. Баканская В. В. Изменение свертываемости крови и некоторые способы ее коррекции. — 1981. — № 2. — С. 217—221.
5. Балуда В. П., Сушкевич Г. Н. Изменение свертываемости крови и тромбоцитов // Лаборатория. — 1980. — С. 92—95.
6. Горикова Т. Н., Ломазова Х. Д. Препараты простациклина и фибринолитической активности. — 1981. — № 4. — С. 371—374.
7. Грицюк А. И. Проблемы внутрисосудистого тромбоза при ишемической болезни сердца. — Минск: Беларусь, 1981. — С. 14—15.
8. Иванов Е. П. Функциональные нарушения гемостаза. — Минск: Беларусь, 1981. — С. 14—15.
9. Иванов Е. П., Войтенко Н. К. Тромбоэмболические осложнения. — Минск: Беларусь, 1981. — С. 14—15.
10. Исабаева В. А. Реакция свертываемости крови к условиям высокой природной гипоксии. — Л.: Наука, 1981. — С. 14—15.
11. Колчинская А. З. О классификации и эксперим. терапии. — 1981. — В кн. Проблемы внутрисосудистого тромбоза. — С. 1402—1407.
12. Кудряшов Б. А., Базарян Г. Г., Противосвертывающей системы. — 1981. — С. 1402—1407.
13. Кубанцева И. В. Деагрегирующие препараты декстрана на тромбоциты. — 1981. — В кн. Проблемы внутрисосудистого тромбоза. — С. 1402—1407.
14. Ломазова Х. Д., Горикова Т. Н. Препараты простациклина и фибринолитической активности. — 1981. — В кн. Проблемы внутрисосудистого тромбоза. — С. 1402—1407.

Выводы

1. Острая гипоксическая гипоксия III степени повышает число тромбоцитов, усиливает их агрегационную способность, нарушает дезагрегацию тромбоцитарных агрегатов, повышает свертывающую активность, подавляет антисвертывающую и фибринолитическую активность крови кроликов.

2. Предварительное введение комплекса препаратов: простаглицина, реоглюмана и никотиновой кислоты предупреждает развитие гиперкоагуляции крови, повышение агрегационной способности тромбоцитов у кроликов при острой гипоксии и является патогенетическим способом специфической профилактики тромбоэмболических осложнений.

AGGREGATION ABILITY OF THROMBOCYTES IN RABBITS WITH ACUTE HYPOXIA AND PATHOGENETIC PROPHYLAXIS OF THROMBOEMBOLIC COMPLICATIONS

Bakanskaya V. V.

Experiments on rabbits have revealed that acute hypoxia of the third degree increases the number of thrombocytes, intensifies their aggregation ability, disturbs disaggregation of thrombocytic aggregates, induces blood hypercoagulation, that can promote appearance of the thromboembolic complications. The method for prophylaxis of the above disturbances is preliminary administration of a complex of drugs (prostacycline, rheoglu-man and nicotinic acid).

Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Byelorussian SSR, Grodno

1. Алиев М. А., Лемешенко В. А., Бекболотова А. К. Изменение гемостатического баланса простаглицин-тромбоксангенерирующих систем при зоосоциальном стрессе // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1984. — № 7. — С. 20—22.
2. Андреев Г. В., Мигалина Л. А. Тромболитическое действие тканевого активатора профибринолизина и никотиновой кислоты // Вопр. мед. химии. — 1973. — 19, № 4. — С. 371—374.
3. Баканская В. В. Влияние острой гипоксии разной степени на систему свертывания крови и пути ее коррекции водорастворимыми витаминами // Механизмы повреждения адаптации и компенсации: Тез. науч. конф. патофизиологов. — Каунас, 1981. — С. 14—15.
4. Баканская В. В. Изменение системы гемокоагуляции при острой гипоксии у кроликов и некоторые способы ее коррекции // Физиол. журн. АН УССР. — 1986. — 32, № 2. — С. 217—221.
5. Балуда В. П., Сушкевич Г. Н., Токарев О. Ю. Микрометод определения агрегации тромбоцитов // Лабораторные методы исследования системы гемостаза. — Томск, 1980. — С. 92—95.
6. Горшкова Т. Н., Ломазова Х. Д. Простая методика определения уровня фибриногена и фибринолитической активности // Лаб. дело. — 1965. — № 3. — С. 167—169.
7. Грицюк А. И. Проблемы внутрисосудистого свертывания крови и тромбообразования при ишемической болезни сердца // Кардиология. — 1984. — 24, № 2. — С. 5—9.
8. Иванов Е. П. Функциональные компоненты гемостаза // Диагностика нарушений гемостаза. — Минск: Беларусь, 1983. — С. 3—42.
9. Иванов Е. П., Войтенко Н. К., Перепелица С. И. Диагностика и профилактика тромбоэмболических осложнений в послеоперационном периоде // Здравоохранение Белоруссии. — 1986. — № 6. — С. 62—65.
10. Исабаева В. А. Реакция свертывания крови у человека и животных в процессе адаптации к условиям высокогорья // Система свертывания крови и адаптация к природной гипоксии. — Л.: Наука, 1983. — С. 52—62.
11. Колчинская А. З. О классификации гипоксических состояний // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1981. — Вып. 4. — С. 3—10.
12. Кудряшов Б. А., Базазьян Г. Г., Ульянов А. М. и др. Анализ механизмов депрессии противосвертывающей системы крови // Физиол. журн. СССР. — 1975. — 61, № 9. — С. 1402—1407.
13. Кубанцева И. В. Дезагрегирующее действие ацетилсалициловой кислоты и препаратов декстрана на тромбоциты: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1981. — 15 с.
14. Ломазова Х. Д., Горшкова Т. Н., Маджуга А. В. Влияние гипоксии на некоторые показатели системы свертывания крови в онтогенезе // Вопросы нервно-гуморальной регуляции процессов свертывания крови в условиях нормы и патологии. — Чита, 1971. — С. 91—93.

15. Лакин К. М., Балуда В. П. Фармакологическая регуляция жидкого состава крови // Актуальные проблемы гемостазиологии: Молекулярные, биологические и физиологические аспекты. — М.: Наука, 1981. — С. 430—460.
16. Маркосян А. А. Гипоксия и свертывание крови // Материалы симпозиума «Высокогорье и красная кровь». — Фрунзе: Илим, 1968. — С. 45—46.
17. Хватова Е. М. Метаболизм острой гипоксии. — Горький, 1977. — 158 с.
18. Фермиллен Ж., Ферстрате М. Гемостаз. — М.: Медицина, 1984. — 100 с.
19. Centon E. Alterations in blood coagulation at high altitude // Hypoxia, high altitude and the heart: first conference on cardiovascular disease // Aspen. Adv. Cardiol. — 1970. — 5. — P. 32—40.
20. Lund T. Profylakse av dyp venos trombose og lungeemboli med dextran // Farmakoterapi. — 1981. — 37, N 4. — P. 95—103.
21. Stefanini M., Dameshek W. The hemorrhagic disorders. — New York; London, 1955. — 369 p.

Гродн. мед. ин-т
М-ва здравоохранения БССР

Поступила 15.12.86

УДК 612.017.1

Формирование гуморального иммунного ответа на стафилококк у мышей

С. А. Бобровник, К. П. Лященко, В. А. Бехало

Начальным этапом индукции иммунного ответа является распознавание антигена прекоммитированными лимфоцитами, имеющими рецепторы к антигенным детерминантам. В периферических лимфоидных органах неиммунизированных мышей ранее нами были обнаружены клетки, способные специфически фиксировать на своей поверхности корпскулы стафилококка белок А-негативного штамма, образуя бактериальные розетки [2]. Эти антигенсвязывающие клетки (АСК) не обладали фагоцитарной активностью, а их рецепторы к стафилококку можно было заблокировать антииммуноглобулиновой сывороткой. По-видимому, АСК принадлежат к популяции В-лимфоцитов и, вероятно, являются предшественниками антителообразующих клеток (АОК). Следовательно, содержание АСК в лимфоидных тканях может служить важным показателем иммунореактивности интактного организма, а по его изменению после активной иммунизации можно судить о формировании гуморального иммунного ответа.

Целью настоящей работы были определение содержания АСК, специфичных к корпскулярному антигену стафилококка (КАС), в селезенке, лимфатических узлах, тимусе и костном мозгу интактных мышей разного возраста, а также изучение динамики АСК и АОК в селезенке, титров противостафилококковых антител в сыворотке крови и изменения avidности АСК при формировании гуморального иммунного ответа на КАС.

Методика

Опыты проводили на обоеполюх мышах линии СВА в возрасте 3—5 и 12—15 мес, полученных из питомника «Столовая» АМН СССР. Приготовление КАС описано нами ранее [2]. Животных иммунизировали внутривенным введением микробных тел ($5 \cdot 10^9$), разведенных 0,5 мл физиологического раствора, однократно или двукратно с интервалом 2 недели. В разные сроки после иммунизации мышей забивали цервикальной дислокацией, извлекали тимус, селезенку, лимфатические узлы и бедренные кости (костный мозг), из которых затем готовили клеточные взвеси для определения содержания АСК описанным ранее методом [2] или числа АОК, специфичных к КАС, с помощью метода иммунофлуоресцентных отпечатков [1]. Титр антител к стафилококку в сыворотке крови мышей оценивали в реакции агглютинации с использованием микротитратора Такачи.

Для изучения распределения им внутривенно вводили КАС [5], и через 2 ч, 1, 2, 4, 8 и 15 ч исследовали лимфатические узлы (брыжеечные, околопочечные, околопеченочные) в люминесцентном микроскопе мате-

Результаты и их обсуждение

Число специфичных к стафилококку интактных мышей линии СВА с тем относительное содержание АСК всегда обнаруживается (таблица). В 2—10 раз ниже, а в тимусе выявлено. Число этих клеток с их содержанием в лимфоидных органах и титров антител в сыворотке крови мышей в 2—3 раза превышает нормальные показатели (таблица). При этом выявлено, что содержание АСК в крови молодых мышей чаще всего стафилококк, тогда как в крови взрослых мышей стафилококк обычно был в пределах нормы.

Установлено, что содержание АСК в крови мышей в 2—3 раза превышает нормальные показатели (таблица). При этом выявлено, что содержание АСК в крови молодых мышей чаще всего стафилококк, тогда как в крови взрослых мышей стафилококк обычно был в пределах нормы. Повышение с возрастом содержания АСК в лимфоидных органах и титров антител в сыворотке крови мышей является отражением течения жизни. Следует отметить, что другими авторами при изучении содержания АСК в крови мышей выявляются впервые, что у обычных животных повышается содержание АСК в сыворотке крови крыс от 1 до 10 лет. Это явление скорее может быть связано с изменением содержания АСК в крови крыс от 1 до 10 лет. Это явление скорее может быть связано с изменением содержания АСК в крови крыс от 1 до 10 лет. Это явление скорее может быть связано с изменением содержания АСК в крови крыс от 1 до 10 лет.

После активной иммунизации отмечено изменений в содержании АСК в костном мозгу в течение 3 недель в лимфатических узлах, которые

Содержание специфичных к стафилококку АСК в селезенке СВА разного возраста

Возраст мышей, мес	Селезенка	
	Число просмотренных клеток	Число АСК
3—5	119 000	37
	119 400	26
12—15	102 800	63
	56 400	52

Для изучения распределения стафилококка в организме иммунизированных мышей им внутривенно вводили КАС (1 мг), меченного изотиоцианатом флуоресценна [5], и через 2 ч, 1, 2, 4, 8 и 15 сут исследовали печень, легкие, селезенку и лимфатические узлы (брыжеечные, околобрюшные, подмышечные) на наличие светящегося в люминесцентном микроскопе материала. Полученный цифровой материал обрабатывали статистически с использованием критерия достоверности Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Число специфичных к стафилококку АСК в селезенке и лимфоузлах интактных мышей линии СВА варьирует в широких пределах. Вместе с тем относительное содержание АСК в различных лимфоидных органах подчиняется определенной закономерности. Так, наиболее высокий процент АСК всегда обнаруживали в селезенке (от 0,01 до 0,10 % количества всех клеток), в лимфатических узлах этот показатель был в 2—10 раз ниже, а в тимусе специфичных к стафилококку АСК не выявлено. Число этих клеток в селезенке, как правило, коррелировало с их содержанием в лимфоузлах и костном мозгу тех же мышей.

Установлено, что содержание АСК в лимфоидных органах старых мышей в 2—3 раза превышает этот показатель у взрослых животных (таблица). При этом выявлены сходные возрастные различия по содержанию нормальных противостафилококковых антител. Сыворотка крови молодых мышей чаще не обладала способностью агглютинировать стафилококк, тогда как у старых животных титр сывороточных антител обычно был в пределах 1:4 — 1:16, а иногда достигал 1:32.

Повышение с возрастом содержания АСК в периферических лимфоидных органах и титров нормальных антител к стафилококку, вероятно, является отражением «естественной иммунизации» животных в течение жизни. Следует отметить, что сходные результаты получены другими авторами при изучении динамики сывороточных антител к тейхоевым кислотам у крыс в онтогенезе [4]. Показано, что такие антитела выявляются впервые в 20-недельном возрасте, причем одновременно у обычных животных и гнотобионтов. С учетом последнего представляется маловероятной причинная зависимость появления и повышения содержания нормальных антител к тейхоевым кислотам в сыворотке крови крыс от влияния собственной микрофлоры. Причиной этого явления скорее может быть сенсibilизация организма тейхоевыми кислотами, поступающими алиментарным путем. Такое предположение согласуется с данными, согласно которым содержание тейхоевых кислот в обычном корме для мелких лабораторных животных (8 мг в 1 кг) вполне достаточно для индукции синтеза антител [8]. Таким образом, хроническое поступление микробных антигенов в организм вместе с пищей, по-видимому, приводит к повышению содержания соответствующих АСК в лимфоидных тканях и гомологичных антител.

После активной иммунизации мышей подкожным введением КАС не отмечено изменений в содержании АСК в лимфоузлах, селезенке и костном мозгу в течение 3 недель наблюдения. Даже в регионарных лимфатических узлах, которые увеличивались при этом в 1,5 раза, чис-

Содержание специфичных к стафилококку АСК в лимфоидных органах мышей линии СВА разного возраста

Возраст мышей, мес	Селезенка			Лимфатические узлы		
	Число просмотренных клеток	Число АСК	Относительное число АСК, %	Число просмотренных клеток	Число АСК	Относительное число АСК, %
3—5	119 000	37	0,031	120 850	16	0,013
	119 400	26	0,023	113 500	13	0,011
12—15	102 800	63	0,061	67 400	21	0,031
	56 400	52	0,095	131 800	57	0,043

ло АСК оставалось близким к контрольному (около 0,01 %). Титр противостафилококковых агглютининов в сыворотке крови после подкожной иммунизации мышей также не изменялся.

В отличие от этого после внутривенного введения КАС мышам число АСК в их селезенках быстро увеличивалось и достигало максимума через 4 сут (рис. 1, а), когда их содержание составляло 0,08—0,12 %, что примерно в 2,5 раза превышало исходное значение. Поскольку

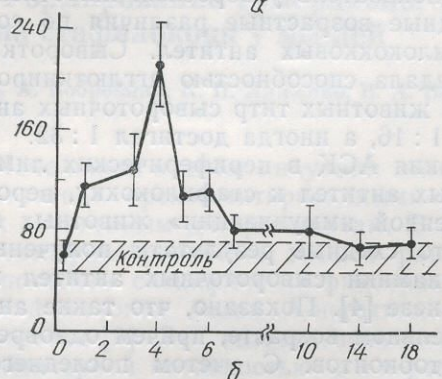
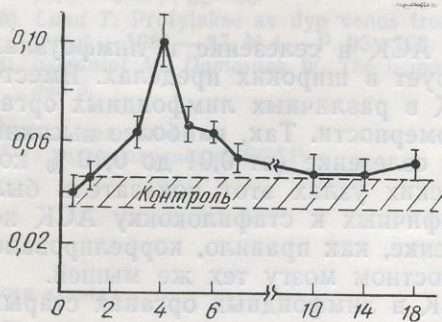


Рис. 1. Динамика относительного содержания (а) и общего числа (б) специфических к стафилококку антигенсвязывающих клеток (АСК) в селезенке мышей линии СВА после однократной внутривенной иммунизации.

По оси ординат — содержание (%) и общее число ($\times 10^3$) АСК в селезенке мышей, по оси абсцисс — сутки после иммунизации.

Рис. 2. Динамика показателей гуморального иммунного ответа на КАС у мышей линии СВА.

По оси ординат — слева: число АОК ($\times 10^3$) в селезенке (кружочки), справа: титр антител ($-\log_2$) в сыворотке крови (треугольники); по оси абсцисс — сутки после иммунизации. Прерывистая линия — первичный, сплошная — вторичный ответ.

Следует отметить, что при формировании иммунного ответа на стафилококк пул АСК претерпевает не только количественные, но и качественные изменения. Селезеночные АСК интактных мышей обычно связывали от одного до нескольких десятков клеток стафилококка. В первые 3—6 сут после иммунизации значительно увеличивался процент АСК, слабо связывающих стафилококк, и лишь единичные лимфоциты адсорбировали по-прежнему много корпускул стафилококка. Однако через 1,5—2,0 недели после иммунизации число АСК, способных фиксировать много стафилококковых клеток, значительно возрастало и уже превышало контрольное значение (до иммунизации). Эти изменения числа высокоавидных АСК, вероятно, связаны с исчезновением в первые дни после иммунизации специфических к КАС В-клеток памяти, трансформирующихся в АОК. Как известно, клетки памяти характеризуются высокими плотностью и авидностью поверхностных рецепторов к антигену, благодаря чему могут связывать его большое количество, тогда как иммуноглобулинсинтезирующие клетки практически лишены антигенраспознающих рецепторов [7]. В наших опытах через 1,5—2,0 недели после иммунизации мышей число специфических

к КАС клеток памяти, повышается содержание в обильно нагруженных стафилококком.

В костном мозгу в отличие от селезенки после иммунизации мышей количество АСК в костном мозгу не составляло 0,001—0,002, а составляло 0,001—0,002. Можно предположить, что в костном мозгу в периферические лимфоузлы костномозговой ткани поступает через несколько дней после иммунизации мышей, составляли 0,001—0,002, но немного клеток стафилококка и лимфоузлов встречались с различной авидностью. В костном мозгу к незрелым В-клеткам с низкой авидностью к КАС, тогда как в периферических лимфоузлах часть АСК представлена зрелыми В-клетками.

В подмышечных и окологлоточных лимфоузлах АСК после внутривенной иммунизации мышам не встречались. В то же время их количество постепенно увеличивалось и через 2—3 недели достигало 2—3 раз исходного. В соответствии с этими результатами предположительно, что через 1—2 недели после введения стафилококка, окрашенных АСК, их число обнаруживается в лимфоузлах. Большая часть антигенного материала (но не другими) лимфоузлов отмечено выше увеличение количества АСК в лимфоузлах, но не в других.

Повышение содержания АСК в селезенке мышей сопровождалось увеличением титра противостафилококковых агглютининов в сыворотке крови. В сыворотке крови титр антител достигал максимума на 5—6 сут после введения КАС (рис. 2, б). В сыворотке крови титр антител составлял 353. В сыворотке крови антителогенеза характеризовался быстрым нарастанием антител к КАС.

Повторная иммунизация мышам после первичной приводила к быстрому нарастанию титра антител к КАС (рис. 2, б). Титр антител в 5—6 раз превышал их максимальный титр после первичной иммунизации. В сыворотке крови титр антител достигал максимума на 5—6 сут после введения КАС и характеризовался быстрым нарастанием антител к КАС.

Как видно из рис. 2, после повторной иммунизации мышам титр антител к КАС в сыворотке крови достигал максимума на 5—6 сут после введения КАС. Титр антител к КАС в сыворотке крови достигал максимума на 5—6 сут после введения КАС.

Сходные различия выявлены в сыворотке крови титр антител к КАС в сыворотке крови достигал максимума на 5—6 сут после введения КАС.

к КАС клеток памяти, по-видимому, возрастает и соответственно повышается содержание в периферических лимфоидных органах АСК, обильно нагруженных стафилококком.

В костном мозгу в отличие от селезенки число АСК в первые дни после иммунизации мышей заметно снижалось. Уже через 2 сут после внутривенного введения КАС содержание АСК в костномозговой ткани составляло 0,001—0,003 %, что в 5—10 раз меньше исходного. Можно предположить, что это связано с эмиграцией АСК из костного мозга в периферические лимфоидные органы. Затем их содержание в костномозговой ткани постепенно возрастало до полного восстановления через несколько дней. Большинство АСК, выявляемых в костном мозгу мышей, составляли малые лимфоциты, связывающие относительно немного клеток стафилококка. В то же время среди АСК селезенки и лимфоузлов встречались малые, средние и большие лимфоциты с различной авидностью. Вероятно, костномозговые АСК принадлежат к незрелым В-клеткам с низкой плотностью поверхностных рецепторов к КАС, тогда как в периферических лимфоидных органах большая часть АСК представлена зрелыми лимфоцитами.

В подмышечных и окологрудных лимфатических узлах число АСК после внутривенной иммунизации мышей существенно не изменялось. В то же время их содержание в брыжеечных лимфоузлах постепенно увеличивалось и через 1 неделю после введения антигена в 2—3 раза превышало исходное, составляющее 0,005—0,020 %. В связи с этими результатами представляло интерес исследовать характер распределения введенного КАС в организме мышей. Экспериментами установлено, что через 1—2 сут после внутривенной инъекции клеток стафилококка, окрашенных изотиоцианатом флуоресцеина, основное их число обнаруживается в печени, легких и селезенке, однако небольшая часть антигенного материала все же задерживается брыжеечными (но не другими) лимфоузлами. Возможно, этим и объясняется отмеченное выше увеличение числа АСК в брыжеечных лимфатических узлах, но не в других.

Повышение содержания АСК в селезенках иммунизированных КАС мышей сопровождалось увеличением числа АСК в селезенке и титров противостафилококковых антител в сыворотке крови. Число АСК в селезенке достигало максимальных значений через 4 сут, а содержание сывороточных агглютининов — через 6 сут после однократного внутривенного введения КАС (рис. 2). На пике иммунного ответа число АСК в селезенке составляло $35\,300 \pm 7\,209$. Последующая стадия угасания антителогенеза характеризовалась резким снижением числа АСК в селезенке при сравнительно медленном уменьшении титров сывороточных антител к КАС.

Повторная иммунизация мышей стафилококком через 2 недели после первичной приводила к развитию иммунного ответа по вторичному типу (рис. 2). При этом число АСК в селезенке на пике реакции в 5—6 раз превышало их максимальное значение у животных, иммунизированных однократно. Анамнестическая реакция на КАС отличалась относительно быстрым увеличением числа антителопродуцентов в селезенке и (после достижения максимальных значений) последующим резким снижением числа АСК, более стремительным, чем при первичном иммунном ответе.

Как видно из рис. 2, после двукратной иммунизации мышей число АСК в селезенке достигало максимума через 5 сут, а не на 4-е сутки, как после однократной иммунизации. Вместе с тем в пересчете на 10^6 кариоцитов число АСК в селезенке было максимальным через 5 сут как после однократной, так и после двукратной иммунизации животных, достигая значений 173 ± 18 и 1042 ± 178 АСК соответственно.

Сходные различия выявлены и по содержанию противостафилококковых агглютининов в сыворотках крови мышей этих групп через 6—7 сут после одно- и двукратной иммунизации. Спустя 10 сут с момента последнего введения КАС количественные различия АСК-ответа у од-

нократно и двукратно иммунизированных животных были уже недостоверными ($P > 0,05$), тогда как титры антител в сыворотке крови последних по-прежнему существенно превышали аналогичные показатели первичного иммунного ответа.

Таким образом, результаты, полученные с помощью метода иммуофлуоресцентных отпечатков, свидетельствуют о достаточно высоких иммуногенных свойствах КАС и о его способности индуцировать формирование иммунологической памяти, которая выражается развитием анамнестической реакции после повторной антигенной стимуляции. Наблюдаемая в наших опытах динамика продукции антител к КАС принципиально не отличается от таковой антителообразования при иммунизации животных другими корпускулярными антигенами. Полученные результаты в основном согласуются с данными исследователей, изучавших закономерности гуморального иммунного ответа на растворимые стафилококковые антигены с помощью метода пассивного локального гемолиза при использовании в качестве тест-системы эритроцитов, сенсibilизированных липотейхоевыми кислотами стафилококка [3].

Из представленных в настоящей работе материалов следует, что старение организма сопровождается повышением иммунологической реактивности к стафилококку (и, вероятно, к другим микробным антигенам). Хотя это и противоречит общеизвестным представлениям о снижении с возрастом способности к первичному иммунному ответу [6], следует отметить, однако, что закономерности онтогенетического созревания системы иммунитета изучены в основном в экспериментах с использованием модельных антигенов, как правило, немикробного происхождения [6]. В наших исследованиях показано увеличение с возрастом содержания специфических к стафилококку АСК в лимфоидных органах мышей и их способности продуцировать антитела к КАС, что, по-видимому, является отличительной особенностью формирования гуморального иммунного ответа на стафилококк. Характер отмеченных изменений иммунореактивности, вероятно, связан с естественной сенсibilизацией организма антигенами стафилококка или серологически родственными антигенами других бактерий, повсеместно распространенных во внешней среде.

THE FORMATION OF HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO STAPHYLOCOCCI IN MICE

S. A. Bobrovnik, K. P. Lyashchenko, V. A. Bekhalo

The time course of changes in the number of antigen-binding and antibody-forming cells in the spleen, lymph nodes, thymus and bone marrow was studied in experiments on CBA mice immunized with particular staphylococcal antigen. Antistaphylococcal immunoreactivity during aging was found to increase. It is concluded that the age-dependence observed is due to natural oral immunization with bacterial antigens during ontogenesis.

T. G. Shevchenko University, Kiev

1. Бобровник С. А. Метод обнаружения антителообразующих клеток, специфичных к корпускулярным бактериальным антигенам // Иммунология.— 1983.— № 5.— С. 91—92.
2. Бобровник С. А., Бехало В. А. Специфическое связывание корпускулярного антигена стафилококка лимфоцитами мышей линии СВА // Физиол. журн.— 1982.— 28, № 5.— С. 623—626.
3. Beining P. R., Flannery G. M., Prescott B., Baker P. J. Influence of carrier-specific thymus-derived cells on the immunoglobulin M antibody response to staphylococcal lipoteichoic acid // Infect. and Immun.— 1980.— 29, N 1.— P. 132—139.
4. Chorpene F. W., Bolton R. W., Frederic G. T., Rozmiarek H. Development of cellular and humoral response to teichoic acid // Dev. Comp. Immunol. 1979.— 3, N 4.— P. 709—724.
5. Ghetie V., Nilsson K., Sjoquist J. Identification of cell surface immunoglobulin mar-

- ker by protein A containing f
3, N 3.— P. 397—403.
6. Makinodan T., Good R. A., Ka
munology and aging.— New Y
7. Nossal G. J. V., Pike B. L. SI
fractionated, hapten-specific
P. 189—202.
8. Rozmiarek H., Bolton R. W., C
tibodies to teichoic acid // Infect

Киев. ун-т им. Т. Г. Шевченко
М-ва высш. и сред. спец. образова

УДК 612.015.3:[611.13+611.14]

Содержание макроэргич АТФазная и креатинки в ткани стенок артерий

А. В. Атаман

Макроэргические фосфорны
занимают АДФ, АТФ и кр
держании структуры крове
им функций. В результате
данные о содержании этих
[13] и кроликов [18], грудно
того скота [16], бедренной
артерии свиней [15], брыжее

С помощью гистохимич
ния в стенке сосудов были
гидролиз АТФ и обратную
креатинфосфата на АДФ [7,
ний, применяемых методик
провести сравнительный ана
единениями артерий и вен—
чения, различающихся межд
ром патологических процессо
С целью проведения та
содержание свободных адени
креатинфосфата, а также ар
риальных и венозных сосудов

Методика

Исследования выполнены на 30 м
пола массой 1,8—2,5 кг. Животны
ляли грудную и брюшную аорту,
и воротную вены. В холодном рас
после чего их замораживали в жидк

Содержание свободных адени
фореа на бумаге [17], а концен
Алексеевой [5]. В качестве одной
чаемых тканей использовали так н
считывали по формуле $([АТФ] +$
тивную активность ткани артериаль
ных на холоду гомогенатах. АТФА
ского фосфата [12]. Креатинкиназа
активов «Bio-Test» (Ляхема, Чехос

- ker by protein A containing fluorescent staphylococci // Scand. J. Immunol.—1974.— 3, N 3.— P. 397—403.
6. Makinodan T., Good R. A., Kay M. M. B. Cellular basis of immunosenescence // Immunology and aging.—New York; London: Plenum Publish. Co., 1977.— P. 23—34.
7. Nossal G. J. V., Pike B. L. Single cell studies on the antibody-forming potential of fractionated, hapten-specific B-lymphocytes // Immunology.—1976.— 30, N 1.— P. 189—202.
8. Rozmiarek H., Bolton R. W., Chorpennig F. W. Environmental origin of natural antibodies to teichoic acid // Infect. and Immun.—1977.— 16, N 2.— P. 505—509.

Киев. ун-т им. Т. Г. Шевченко

Поступила 22.06.87

М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

УДК 612.015.3:[611.13+611.14]

Содержание макроэргических фосфатов, АТФазная и креатинкиназная активность в ткани стенок артерий и вен у кроликов

А. В. Атаман

Макроэргические фосфорные соединения, среди которых особое место занимают АДФ, АТФ и креатинфосфат, играют важную роль в поддержании структуры кровеносных сосудов и осуществлении присущих им функций. В результате ранее проведенных исследований получены данные о содержании этих соединений в стенках воротной вены крыс [13] и кроликов [18], грудной аорты кроликов [2, 11] и крупного рогатого скота [16], бедренной артерии и вены собак [1], общей сонной артерии свиней [15], брыжеечной артерии быков [8].

С помощью гистохимических и биохимических методов исследования в стенке сосудов были обнаружены ферменты, обеспечивающие гидролиз АТФ и обратимую реакцию переноса фосфатной группы от креатинфосфата на АДФ [7, 14]. Однако различия объектов исследований, применяемых методик и условий постановки опытов не позволяют провести сравнительный анализ обеспеченности макроэргическими соединениями артерий и вен — сосудов разного функционального назначения, различающихся между собой уровнем метаболизма и характером патологических процессов, развивающихся в них.

С целью проведения такого анализа в настоящей работе изучены содержание свободных адениловых нуклеотидов (АМФ, АДФ, АТФ) и креатинфосфата, а также активность АТФазы и креатинкиназы артериальных и венозных сосудов кроликов.

Методика

Исследования выполнены на 30 молодых половозрелых беспородных кроликах обоего пола массой 1,8—2,5 кг. Животных забивали с помощью воздушной эмболии. Выделяли грудную и брюшную аорту, легочную и общую сонную артерии, заднюю полую и воротную вены. В холодном растворе Кребса освобождали сосуды от адвентиции, после чего их замораживали в жидком азоте и измельчали.

Содержание свободных адениловых нуклеотидов определяли методом электрофореза на бумаге [17], а концентрацию креатинфосфата — методом, предложенным Алексеевой [5]. В качестве одной из характеристик энергетического состояния изучаемых тканей использовали так называемый энергетический заряд [9], который рассчитывали по формуле $([АТФ] + 1/2[АДФ]) / ([АТФ] + [АДФ] + [АМФ])$. Ферментативную активность ткани артериальных и венозных стенок определяли в приготовленных на холоду гомогенатах. АТФазную активность оценивали приростом неорганического фосфата [12]. Креатинкиназную активность определяли с помощью набора реактивов «Bio-Test» (Ляхема, Чехословакия), содержание белка — спектрофотометри-

чески [5]. С целью сопоставления изучаемых показателей в стенке сосудов и в миокарде содержание свободных адениловых нуклеотидов, креатинфосфата и АТФазная активность исследованы и в сердце кроликов.

Полученные результаты обрабатывали с помощью непараметрических методов статистики [3].

Результаты

Суммарное содержание свободных адениловых нуклеотидов. Как следует из табл. 1, самая высокая суммарная концентрация свободных адениловых нуклеотидов (АМФ+АДФ+АТФ) определяется в миокарде кроликов. В стенке воротной вены этот показатель на $1,6 \text{ мкмоль} \times \text{г}^{-1}$ меньше, далее (в порядке уменьшения общей концентрации изученных нуклеотидов) следуют легочная артерия, общая сонная артерия и задняя полая вена, брюшная аорта, грудная аорта.

АТФ. Содержание АТФ (по отношению к суммарной концентрации свободных адениловых нуклеотидов) составляет в стенках брюшной аорты 33,3, грудной — 36,8, задней полых вены — 38,5, легочной артерии — 38,9, воротной вены 51,8, общей сонной артерии 53,8, миокарде 55,2 %. Абсолютное содержание АТФ в стенках миокарда в 6, воротной вены в 3, легочной и общей сонной артерий в 2 раза выше, чем в стенке аорты. Несущественны различия по этому показателю между грудной и брюшной аортами, и задней полых веной.

АДФ. В системе адениловых нуклеотидов АДФ составляет в стенках миокарда — 28,9, воротной вены — 30,0, общей сонной артерии — 30,8, грудной аорты — 36,8, брюшной аорты — 37,5, задней полой вены — 38,5, легочной артерии 38,9%. Самая большая абсолютная концентрация АДФ определяется в ткани миокарда. Здесь содержание этого нуклеотида в 3 раза больше, чем в стенке грудной аорты. В стенке легочной артерии и воротной вены уровень АДФ в 2 раза выше, чем в грудной аорте. Различия между грудной, брюшной аортай, общей сонной артерией и задней полой веной по этому показателю несущественны.

Энергетический заряд. По энергетическому заряду все изученные ткани можно разделить на две группы. В первую группу входят миокард (энергетический заряд составляет $0,70 \pm 0,02$), воротная вена ($0,68 \pm 0,02$) и общая сонная артерия ($0,69 \pm 0,02$). Во вторую — грудная аорта ($0,55 \pm 0,02$), брюшная аорта ($0,52 \pm 0,03$), легочная артерия ($0,58 \pm 0,02$), задняя полая вена ($0,59 \pm 0,03$).

Креатинфосфат. Содержание этого макроэргического фосфата, как и других изученных фосфагенов, существенно выше в миокарде по сравнению со стенкой сосудов. Среди сосудов самые высокие значения креатинфосфата определяются в стенке воротной вены, самые низкие — в стенке грудной аорты. Остальные сосуды по содержанию креатин-

Таблица 1. Содержание высокоэнергетических фосфатов в тканях стенок сосудов и миокарда у кроликов, $\text{мкмоль} \cdot \text{д}^{-1} \cdot \text{г}^{-1}$

Объект исследования	АМФ	АДФ	АТФ	АМФ+АДФ+ +АТФ	Креатинфосфат
Аорта:					
грудная	0,25±0,03	0,35±0,04	0,35±0,04	0,95±0,05	0,49±0,06
брюшная	0,35±0,04	0,45±0,05	0,40±0,04	1,20±0,09	0,64±0,06
Артерия:					
общая сонная	0,20±0,04	0,40±0,03	0,70±0,04	1,30±0,05	0,81±0,07
легочная	0,40±0,04	0,70±0,04	0,70±0,05	1,80±0,05	0,92±0,12
Вена:					
задняя полая	0,30±0,08	0,50±0,04	0,50±0,04	1,30±0,10	0,74±0,04
воротная	0,40±0,03	0,66±0,08	1,14±0,12	2,20±0,16	1,12±0,07
Миокард	0,60±0,08	1,10±0,07	2,10±0,13	3,80±0,17	1,81±0,26

Примечание. Число животных во всех вариантах опыта составляет 10.

Т а б л и ц а 2. Креатинкиназная
ед·мг⁻¹ белка

Объект исследования

Грудная аорта (1)
Брюшная аорта (2)
Общая сонная артерия (3)
Легочная артерия (4)
Задняя полая вена (5)
Воротная вена (6)

Примечание. Число животных

Таблица 3. АТФазная активность тканей стенок сосудов и миокарда

Объект исследования

Грудная аорта (1)
Брюшная аорта (2)
Общая сонная артерия (3)
Легочная артерия (4)
Задняя полая вена (5)
Воротная вена (6)
Миокард (7)

Примечание. Число животных

фосфата занимают промежу-
грудной аортой.

Креатинкиназная активность. Креатинкиназы представлены в исследуемых сосудах с различной активностью: воротная венная > задняя полая вена, грудная аорта > изучаемого фермента в стенках сосудов, чем в стенках аорты и задней полой вены.

АТФазная активность.

АТФазная активность. Активности гомогенатов сосу-
ны в табл. 3. Обращает на
активность ткани задней п-
тальных сосудов и миокарда
миокарда ниже, чем тканью
ротной вены.

Обсуждение

Значение АТФ в поддержании целостности сосудистой стенки АДФ и креатинфосфата пула АТФ в связи с наличием АТФ-киназы и аденилаткиназы

Креатинфосфат у лошадей — энергетических фосфатных групп, обеспечивающий постоянство в миокарде это соединение у митохондрий к местам ее у всех изученных сосудов к

Таблица 2. Креатинкиназная активность гомогенатов артерий и вен у кроликов, ед·мг⁻¹ белка

Объект исследования	M±m	Статистический показатель					
		P(1)	P(2)	P(3)	P(4)	P(5)	P(6)
Грудная аорта (1)	2,49±0,34		>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
Брюшная аорта (2)	2,24±0,34	>0,05		<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
Общая сонная артерия (3)	4,76±0,50	<0,05	<0,05		<0,05	<0,05	<0,05
Легочная артерия (4)	3,69±0,46	<0,05	<0,05	<0,05		<0,05	<0,05
Задняя полая вена (5)	2,62±0,31	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05		<0,05
Воротная вена (6)	6,41±0,75	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	

Примечание. Число животных во всех вариантах опыта составляет 5.

Таблица 3. АТФазная активность (по неорганическому фосфору) гомогенатов тканей стенок сосудов и миокарда у кроликов, мкмоль·л⁻¹·мг⁻¹·15 мин⁻¹

Объект исследования	M±m	Статистический показатель					
		P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆
Грудная аорта (1)	0,35±0,03		>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
Брюшная аорта (2)	0,37±0,05	>0,05		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Общая сонная артерия (3)	0,29±0,03	>0,05	>0,05		>0,05	<0,05	>0,05
Легочная артерия (4)	0,28±0,03	>0,05	>0,05	>0,05		<0,05	>0,05
Задняя полая вена (5)	0,46±0,03	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05		>0,05
Воротная вена (6)	0,38±0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
Миокард (7)	0,24±0,03	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Примечание. Число животных во всех вариантах опыта составляет 5.

фосфата занимают промежуточное положение между воротной веной и грудной аортой.

Креатинкиназная активность. Результаты определения активности креатинкиназы представлены в табл. 2. В зависимости от креатинкиназной активности изученные сосуды располагаются в следующей последовательности: воротная вена > общая сонная артерия > легочная артерия > задняя полая вена, грудная аорта, брюшная аорта. Активность изучаемого фермента в стенках воротной вены почти в 2,5 раза выше, чем в стенках аорты и задней полой вены.

АТФазная активность. Результаты определения АТФазной активности гомогенатов сосудистой ткани и миокарда представлены в табл. 3. Обращает на себя внимание тот факт, что АТФазная активность ткани задней полой вены существенно выше, чем остальных сосудов и миокарда, а интенсивность гидролиза АТФ тканью миокарда ниже, чем тканью грудной и брюшной аорт, а также воротной вены.

Обсуждение

Значение АТФ в поддержании функциональной активности и структурной целостности сосудистой стенки общеизвестно. Два других соединения АДФ и креатинфосфат играют существенную роль в восполнении пула АТФ в связи с наличием соответствующих ферментов — креатинкиназы и аденилаткиназы [10].

Креатинфосфат у большинства тканей — запасной донор высокоэнергетических фосфатных групп. Он действует как своеобразный буфер, обеспечивающий постоянство концентрации АТФ [4]. Кроме того, в миокарде это соединение является формой транспорта энергии из митохондрий к местам ее утилизации [6]. Обнаруженный в тканях всех изученных сосудов креатинфосфат в концентрации 0,49—

1,15 мкмоль·л⁻¹·г⁻¹, а также выявленная активность креатинкиназы, обеспечивающей образование АТФ за счет креатинфосфата, свидетельствуют о важном значении этого соединения в энергетическом обмене сосудистой стенки. Полученные результаты еще раз подтверждают тот факт, что содержание макроэргических фосфатов в стенке сосудов значительно ниже, чем в ткани миокарда.

Среди изученных сосудов особое место занимает воротная вена, для которой характерна спонтанная сократительная активность, обусловленная преобладанием так называемых фазных гладкомышечных волокон. Проведенные исследования показали, что в стенке воротной вены содержание АТФ и креатинфосфата, а также креатинкиназная активность существенно выше, чем в стенках остальных сосудов, где преобладают так называемые тонические гладкомышечные волокна. Эти результаты хорошо согласуются с данными, представленными Voth и Lell [18]. Вторым отличительным свойством стенок воротной вены, установленным нами, является более высокий удельный вес АТФ в системе свободных адениловых нуклеотидов по сравнению с таковым остальных сосудов. Исключением является общая сонная артерия, которая по этому показателю, как и воротная вена, может быть сравнима с миокардом. Отдельную группу составляют изученные магистральные сосуды: грудная и брюшная аорты, легочная артерия, задняя полая вена. Для стенки этих сосудов характерны низкое содержание АТФ и низкий удельный вес его в системе свободных адениловых нуклеотидов.

В неповрежденных клетках содержание АТФ поддерживается на довольно постоянном уровне в связи со сбалансированностью процессов образования и утилизации энергии. Об интенсивности использования АТФ можно косвенно судить по АТФазной активности гомогенатов сосудистой ткани. Выполненные нами исследования показали, что АТФазная активность грудной и брюшной аорты, задней полой и воротной вен существенно выше, чем миокарда. С учетом этого можно предположить, что низкое содержание АТФ в стенках артериальных и венозных сосудов связано с высокой скоростью использования этого соединения.

Выводы

1. Содержание АДФ, АТФ и креатинфосфата в стенке артериальных и венозных сосудов существенно ниже, чем в миокарде кроликов.

2. В стенке воротной вены, обладающей спонтанной сократительной активностью, концентрация макроэргических фосфатов и креатинкиназная активность выше, чем их концентрация в стенках сосудов, не обладающих этим свойством.

3. АТФазная активность гомогенатов артерий и вен выше по сравнению с гомогенатом миокарда кроликов.

CONTENT OF MACROERGIC PHOSPHATES, ATPase AND CREATINE KINASE ACTIVITY OF THE ARTERIAL AND VENOUS WALLS IN RABBITS

A. V. Ataman

Experiments on rabbits have revealed that the content of ADP, ATP and creatine phosphate in the tissue of arterial and venous walls is much lower than in the myocardium tissue. Concentration of macroergic phosphates and creatine kinase activity in the portal vein wall are higher than in the wall of arteries and hind caval vein. ATPase activity of arterial and venous tissues is higher as compared with that of myocardium.

Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Атаман А. В. Экспериментальное исследование роли иннервации в нарушении энергетического обмена. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Киев, 1987.
2. Быць Ю. В. Роль нарушений энергетического обмена в развитии атеросклероза. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Киев, 1987.
3. Гублер Е. В., Генкин А. А. Гистологические исследования в сердечно-сосудистой патологии. М.: Медицина, 1979. — 429 с.
4. Ленинджер А. Основы биохимии. М.: Мир, 1979. — 429 с.
5. Практикум по биохимии / Под ред. проф. А. А. Гублера. М.: Медицина, 1979. — 238—251.
6. Adams C. W. M., Bayliss O. B. The role of ATP in the aortic wall in experimental atherosclerosis. *Pathol. Bacteriol.*—1963.—86.
7. Arnqvist H. J., Lundholm L. The role of ATP in the aortic wall in experimental atherosclerosis. *Pathol. Bacteriol.*—1963.—86.
8. Atkinson D. E. Cellular energy metabolism. *Ann. Rev. Biochem.*—1977.—230 p.
9. Carr C. J., Bell F. K., Hurst J. W. The role of ATP in the aortic wall in experimental atherosclerosis. *Pathol. Bacteriol.*—1963.—86.
10. Chace K. V., Odessy R. The role of ATP in the aortic wall in experimental atherosclerosis. *Pathol. Bacteriol.*—1963.—86.
11. DuBois K. P., Potter V. R. Aspartate triphosphatase. *J. Biol. Chem.*—1964.—239, N 2.—P. 1111.
12. Hellstrand P., Jorup C., Lydrup P. Phosphagen content during atherosclerosis. *Arch. Biochem. Biophys.*—1984.—201, N 2.—P. 1111.
13. Kirk J. E. Intermediary metabolism and atherosclerosis. *Atherosclerosis*.—1963.—P. 67—117.
14. Krisanda J. M., Paul R. J. Phosphatase activity in the porcine carotid artery. *Amer. J. Pathol.*—1964.—70, N 2.—P. 1111.
15. Mandel P. Metabolisme de la paroi artérielle. *Metabolism*.—1964.—10, N 2.—P. 1111.
16. Sato T. R., Thomson J. F. D. Inorganic phosphate, adenosine triphosphate. *Anal. Biochem.*—1973.—10, N 10.—S. 76—92.
17. Voth D., Lell D. Vergleichende Untersuchung der ATPase-Aktivität in verschiedenen Geweben. *Z. Vergleichende Biochem. Biophys.*—1973.—10, N 10.—S. 76—92.

Киев. мед. ин-т им. акад. А. А. Б. М-ва здравоохранения УССР

УДК 616.24—089.87:616.127:616.16

Структурно-функциональные изменения микроциркуляторного русла после резекции легких

Р. И. Вайда, И. Е. Герасимюк, А. Р.

Резекция легких в настоящее время является одной из наиболее распространенных операций в хирургии грудной клетки. В практике и нередко является причиной развития многих заболеваний легочного русла малого круга кровообращения. Сопровождается увеличением объема легочного сердца, нарушением функции гипертензивного периода, определяющего состояние русла и прежде всего капиллярной сети. Жизнь человека зависит от состояния капиллярной сети и метаболического гомеостаза. Сведения о состоянии капиллярной сети после резекции легких являются важными для понимания механизмов развития осложнений и для разработки методов профилактики.