

ISSN 0201-8489

Физиологический журнал

ТОМ 36 № 6 1990

6'90

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ф. Н. СЕРКОВ
(главный редактор)
Н. В. БРАТУСЬ
Г. М. БУТЕНКО
М. Я. ВОЛОШИН
С. Д. ГРОЙСМАН
А. Г. ЗАДОРОВЫЙ
(ответственный секретарь)
Н. Н. ЗАЙКО
П. Г. КОСТЮК
В. Ф. САГАЧ
(зам. главного редактора)
М. М. СЕРЕДЕНКО
Н. Д. ТРОНЬКО
М. Ф. ШУБА

Ф. Н. СЕРКОВ
В. А. БЕРЕЗОВСКИЙ
Ф. П. ВЕДЯЕВ
М. И. ГУРЕВИЧ
Б. Е. ЕСИПЕНКО
Н. В. ИЛЬЧЕВИЧ
В. Н. КАЗАКОВ
К. В. КОВАНОВ
А. О. НАВАКАТИКЯН
В. Н. НИКИТИН
Е. Н. ПАНАСЮК
В. С. РАЙЦЕС
Г. И. ФЕДОРОВИЧ
В. В. ФРОЛЬКИС
Г. А. ХАСАБОВ
А. И. ХОМАЗЮК

Научный редактор Ф. Н. СЕРКОВ

Ответственный секретарь редакции Г. С. СОКИРКО

Адрес редакции: 252024 Киев
Телефон 293 29 54

Редакторы И. М. Акимов, В. В. Войтенко
Художественный редактор А. Н. Буртовский
Технические редакторы А. Д. Голина, О. С. Коваленко
Корректоры Л. П. Захарченко, М. Н. Каменская

Сдано в набор 05.09.90. Подп.
Бум. тип. № 1. Выс. печ. Усл. печ. л. 1,7. Усл. кр.-отт. 11,7. Уч.-изд. л. 12,65.
Тираж 825 экз. Заказ 0-637. Цена 1 р. 40 к.

Киевская книжная типография научной книги. 252004, Киев, ул. Репина, 4.

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. А.А.БОГОМОЛЬЦА

Физиологический журнал

ТОМ 36 № 6 1990
НОЯБРЬ-ДЕКАБРЬ

Научно-теоретический журнал • Основан в январе 1955 г.

Выходит 1 раз в 2 месяца • Киев Наукова думка

СОДЕРЖАНИЕ

Статьи

- ОРЛОВА Ц. Р., ЯКУШКИН В. В., ЕЛИЗАРОВА Е. П. Содержание таурина в крови и миокарде кроликов с экспериментальной сердечной недостаточностью 3
- ПОПОВИЧ М. И., КОБЕЦ В. А., КАПЕЛЬКО В. И. Поражение сердца, вызываемое норадреналином, и защитный эффект таурина 8
- ✓ ХРОМОВ А. С., САГАЧ В. Ф., ДМИТРИЕВА А. В., ДОЛОМАН Л. Б. Некоторые механизмы недостаточности кровообращения при септическом шоке 13
- ✓ ГАРКАВЕНКО В. В., ЛИМАНСКАЯ Л. И., КАПУСТИНА М. Т., КАЛЬМУЦКИЙ А. Б. Изменения поздних компонентов соматосенсорных вызванных потенциалов у человека при парной стимуляции 18
- ✓ ГАРКАВЕНКО В. В., ЛИМАНСКАЯ Л. И., ВАСИЛЬЕВА Р. А., ВАЩЕНКО Е. А. Влияние интенсивности стимуляции на вариабельность и взаимосвязь некоторых поздних компонентов соматосенсорного вызванного потенциала у человека 23
- ГЛУХОВ В. П. Роль адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса в регуляции функций системы свертывания крови 27
- КОЗЛОВСКИЙ В. Л., ПРАХЬЕ И. В. Конвульсионное действие хинолиновой кислоты на мозговые структуры 31
- МОВЧАН Е. В. Влияние разрушения слуховых центров мозга на дальность эхолокационного обнаружения целей летучими мышами вида *Rhinolophus ferrugineus* (большой подковонос) 36
- АШИРМЕТОВ А. Х., КРАКОВСКИЙ М. Э. Значение парасимпатического отдела нервной системы для регуляции активности микросомальной монооксигеназы в печени крыс 43
- МАСЮК А. И., ДОЛГОВА Е. Н. Возможный механизм регуляции желчеотделительной функции печени гидрокортизоном 46
- ПАРАНИЧ А. В., ЧАЙКИНА Л. А. Влияние алиментарных факторов на образование первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов 51
- МИЩЕНКО В. П., КАЙДАШЕВ И. П., КАТРУШОВ А. В., СИЛЕНКО Ю. И., ЦЕБРЖИНСКИЙ О. И. Влияние нейтрофильных лейкоцитов на состояние липидной пероксидации в эритроцитах и его физиологическое значение 55
- БАБЕНКО Н. А., БАСАНЕЦ Л. М., ЕЖОВА О. А. Возрастные особенности изменения липидов легких, сердца и мозга белых крыс под влиянием диетических факторов 59

ИВАНОВА Л. А., КАРТАШЕВ А. Г. Динамика сперматогенеза у белых мышей различных возрастных групп	63
БОЖКО Г. Х., ЧУРСИНА В. С., ВОЛОШИН П. В., КУЛАБУХОВ В. М. Влияние этанола на синтез белков в тканях различных органов морских свинок	70
ОВСИЕНКО В. В., НИКОЛЬСКИЙ И. С. Диссоциация мастолимфоцитарных розеток	75
ПВ ПЛАВЛОВИЧ С. И., АЛЕКСЕЕВА И. Н. Изменение гистоструктуры и функциональной активности иммунокомпетентных органов в условиях нарушенного воротного кровоснабжения печени	79
ПАРАМОНОВА Г. И. Влияние денервации печени на систему микросомального окисления взрослых и старых крыс	84
ТЮХТИН Г. М. Возрастные особенности влияния инсулина на мембранный потенциал клеток пучковой зоны коры надпочечников	90
Краткие сообщения	
БРЮХИН Г. В., МИХАЙЛОВА Г. И. Интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа у потомства самок крыс с хроническим поражением печени	94
БРЮХИН Г. В., ГРАЧЕВ А. Ю. Фагоцитарная активность моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов у потомства животных с экспериментальным хроническим поражением печени	97
КРИМКЕВИЧ Е. И. Калликреин-кининовая система почечного аллотрансплантата	100
Методика	
ДОЛОМАН Л. Б., ХРОМОВ А. С. Определение почечного кровотока методом тетраполярной реоплетизмографии	105
Обзоры	
ЛЯЩЕНКО К. П. Морфофункциональные взаимоотношения в формировании иммунологической памяти	107
АЛЕШИН Б. В. Физиологические основы зубной трансформации щитовидной железы и патогенез эутиреоидного зоба	115

УДК 547.436:612.128+616.12—007.2

Ц. Р. Орлова, В. В. Якушкин, Е. П. Елизарова

Содержание таурина в крови и миокарде кроликов с экспериментальной сердечной недостаточностью

Таурин — широко распространенное в животном мире соединение, представляющее собой аминосульфоновую кислоту — сульфоновый аналог аланина. В организме млекопитающих наибольшим содержанием таурина характеризуются клетки нервной системы, миокарда, скелетных мышц и крови, в частности тромбоциты [7]. Несмотря на продолжительный период изучения таурина, его функциональная роль в организме продолжает оставаться неясной. Сложившаяся к настоящему времени точка зрения отводит таурину роль эндогенного регулятора внутриклеточного кальция [6].

Повышенный интерес к вопросу о роли таурина в функционировании сердечно-сосудистой системы вызвал факт возрастания содержания таурина в миокарде в результате развития некоторых сердечно-сосудистых патологий. Содержание таурина в сердечной мышце оказалось повышенным в 3—4 раза у умерших больных с диагнозом сердечной недостаточности [4]. Такое повышение отмечено у собак с искусственно вызванным стенозом легочной артерии недостаточностью правого желудочка [11] и у крыс — спонтанных гипертоников [8]. Предполагаемый эффект от возрастания содержания таурина в миокарде заключается в защите последнего от перенапряжения в условиях усиленной адренергической стимуляции и развивающейся гипертрофии [2].

Несмотря на неясность в вопросах о назначении, происхождении и механизмах функционирования таурина в сердце, эффект возрастания содержания таурина в миокарде мог бы служить диагностическим критерием в этом случае, если бы он сопровождался соответствующими изменениями концентрации таурина в крови. Однако результаты обследования больных и экспериментов, проведенных на животных, представляются пока довольно неоднозначными. В частности, не наблюдалось существенных изменений содержания таурина в плазме крови у собак с моделированной правосторонней недостаточностью [11]. Тем не менее, после того как было обнаружено, что основное количество таурина крови содержится в тромбоцитах, отмечено параллельное возрастание содержания таурина в левом желудочке и тромбоцитах у линейных крыс со спонтанной гипертензией (SHR) [8]. Однако на других моделях гипертонии не наблюдали накопления таурина в тромбоцитах [9], а у больных хронической гипертонией, напротив, содержание таурина в тромбоцитах оказалось пониженным [10].

Цель нашей работы — изучение динамики общего содержания таурина в крови и его накопления в миокарде у животных с застойной сердечной недостаточностью, моделируемой повреждением аортального сердечного клапана [1]. При этом анализ содержания таурина в крови производили на протяжении года с момента операции.

Методика

В работе использовали кроликов-самцов породы шиншилла, содержавшихся на стандартной диете без таурина. Под наркозом (барбитал, 50 мг/кг) в правую сонную артерию вставляли полый, открытый на переднем конце, перфоратор длиной 12 см, диаметром

© Ц. Р. Орлова, В. В. Якушкин, Е. П. Елизарова, 1990.

3 мм, соединенный с датчиком давления. Под контролем давления перфоратор проводили по артерии до сердца и повреждали аортальный клапан. Для последующего наблюдения отбирали кроликов, у которых относительное пульсовое давление в результате повреждения клапана возрастало не менее, чем на 75 %.

Пробы крови для анализа отбирали в первой половине дня по 1 мл из краевой ушной вены. К 1 мл крови добавляли 1 мл 5 %-ной хлорной кислоты для разрушения кровяных клеток и денатурации белков, осаждали в течение 20 мин при 2000 g. К 0,8 мл супернатанта добавляли 0,8 мл 0,2 моль/л карбоната калия, оставляли на 2 ч на холоду для выпадения кристаллов осадка солей хлорной кислоты и фильтровали. Для определения содержания таурина в миокарде 100 мг ткани сердца растирали в жидком азоте, добавляли 2 мл 0,25 %-ной хлорной кислоты и далее поступали так же, как с образцами крови.

Определение содержания таурина в образцах производили с помощью аминокислотного анализатора Ligimat-3 (Labotron) на ионообменной смоле Durrum Type DC-1A resin по системе Durrum Pico-Buffer System. Площадь отдельных пиков на хроматограммах вычисляли с помощью автоматического интегратора Chromatopac C-E1B.

Результаты и их обсуждение

В 33 из 36 случаев через 10 — 15 сут после операции содержание таурина в крови начинало возрастать, достигая к 20 — 30-м суткам максимального значения, составляющего 140 — 160 % исходного. В дальнейшем концентрация таурина у всех животных снижалась за 2 — 3 мес до нового стационарного значения, близкого к исходному, но в большинстве случаев на 10 — 15 % более низкого. После этого, в течение по крайней мере года, значительных изменений концентрации таурина в крови не наблюдали. В то же время содержание таурина в крови контрольных, неоперированных, животных являлось устойчивым показателем, и его изменчивость не превышала 15 % за 3 мес. Следовательно, если до операции содержание таурина, по результатам исследования крови 36 кроликов, составляло (331 ± 42) нмоль/мл (100 %), то после — оно изменялось следующим образом:

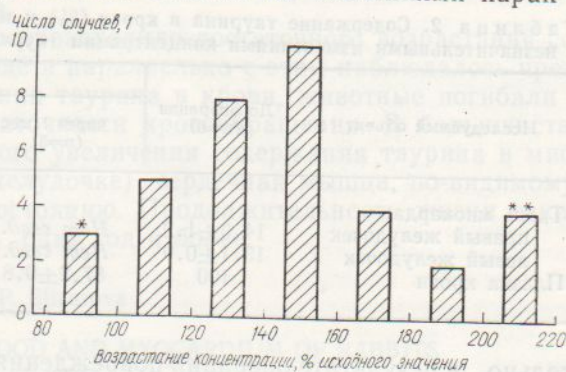
На 5-е сутки	(9 кроликов)	— (315 ± 48)	нмоль/мл или	$(96,4 \pm 9,5)$ %
На 12-е сутки	(12 кроликов)	— (387 ± 53)	нмоль/мл или	$(21,6 \pm 16,8)$ %
На 20-е сутки	(14 кроликов)	— (455 ± 50)	нмоль/мл или	$(143,6 \pm 26,5)$ %
На 1-й месяц	(15 кроликов)	— (524 ± 77)	нмоль/мл или	$(154,0 \pm 30,2)$ %
На 2-й месяц	(21 кролик)	— (356 ± 81)	нмоль/мл или	$(106,3 \pm 23,7)$ %
На 3-й месяц	(9 кроликов)	— (320 ± 21)	нмоль/мл или	$(84,8 \pm 8,4)$ %

На рисунке представлена картина распределения максимального значения концентрации таурина в крови. В 3 случаях из 36 наблюдали не возрастание, а монотонное снижение концентрации до нового стационарного значения. В 5 случаях возрастание было не резко выраженным и не превышало 20 % исходного значения. Наибольшее число случаев (18 из 36) характеризовалось максимальным значением концентрации таурина в крови, лежащим в пределах 120—160 %. Из 6 животных, у которых возрастание превышало 180 %, 4 погибли от недостаточности кровообращения в период с 20 сут до 2 мес после операции. При этом максимальные значения содержания таурина в крови, составляющие 184, 227, 264 и 377 % исходного, наблюдали в последних перед смертью анализах.

Двое животных, у которых также наблюдали значительное возрастание содержания таурина в крови (186 и 217 % соответственно) остались живы и у них, как и у остальных животных, через 2-3 мес после операции концентрация таурина снизилась до значения, близкого к исходному. В тех же случаях, когда животные погибали ранее, чем через 20 сут после операции, когда еще не произошло существенного возрастания содержания таурина в крови, или позднее, чем через 2 мес, когда оно уже снизилось, содержание таурина в крови за несколько суток перед смертью было таким же низким, как и у остальных животных.

У животных с явно выраженным возрастанием концентрации таурина в крови (более 120 %) содержание таурина в миокарде через 2 мес после операции возросло в 2,7 раза в левом желудочке, в 1,8 раза в правом и составило ($35,6 \pm 2,6$) мкмоль/г для левого и ($24,9 \pm 2,3$) мкмоль/г для правого желудочков, в то время как для контрольных животных эти цифры составляли ($13,1 \pm 0,9$) и ($14,0 \pm 1,2$) мкмоль/г соответственно (табл. 1). Практически такими же значениями харак-

Гистограмма распределения значений максимальной концентрации таурина в крови (* диапазон соответствует монотонному снижению концентрации; ** диапазон соответствует всем случаям, в которых возрастание концентрации превышало 200 %). Объяснение в тексте.



теризовалось содержание таурина в сердечной мышце через 3, 6 и 12 мес после операции. Через 1 мес после операции содержание таурина в миокарде было более низким и составляло ($26,5 \pm 1,5$) мкмоль/г для

Таблица 1. Содержание таурина в крови (%) и миокарде (мкмоль/г) животных с явно выраженными изменениями концентрации этого соединения в крови после операции ($M \pm m$)

Объект исследования	До операции (n=6)	После операции		
		через 1 мес (n=3)	через 3 мес (n=3)	через 5 мес (n=5)
Ткань миокарда:				
правый желудочек	$14,0 \pm 1,2$	$21,0 \pm 1,5$	$24,9 \pm 2,3$	$25,6 \pm 2,4$
левый желудочек	$13,1 \pm 0,9$	$26,5 \pm 1,5$	$35,6 \pm 2,6$	$36,5 \pm 4,6$
Плазма крови	100	$154,0 \pm 30,2$	$106,3 \pm 23,7$	$84,7 \pm 8,4$

Примечание. Здесь и далее в табл. 2 и 3 n—число животных.

левого и ($21,0 \pm 1,5$) мкмоль/г для правого желудочков. Таким образом, возрастание содержания таурина в миокарде происходит в основном в течение двух первых месяцев после операции. Параллельно накоплению в сердце таурина в эти же сроки увеличивается масса сердца в 1,7 раза, а также проявляются свойственные гипертрофированному сердцу характерные электрокардиографические признаки.

Столь же высоким было содержание таурина в сердечной мышце у животных со слабо выраженными изменениями концентрации таурина в крови (табл. 2). Через 3 мес после операции (измерений в другие сроки не производили) содержание таурина в левом желудочке возросло в 2,8 раза, в правом — в 1,9 раза, а общая масса сердца увеличилась в 1,7 раза. Иными словами, накопление таурина в сердце и гипертрофия последнего происходили с такой же эффективностью, как и в случаях с явно выраженными изменениями концентрации таурина в крови.

Таким же высоким оставалось содержание таурина в миокарде и после смерти животных в тех случаях, когда оно успевало предварительно существенно возрасти, т. е. более чем через 2 мес после операции. Однако у животных, погибших в период от 20 сут до 2 мес после операции и характеризовавшихся высокими значениями концентрации таурина в крови перед смертью, содержание таурина в сердечной мышце

было хотя и несколько выше, чем у контрольных неоперированных животных ($19,0 \text{ ммоль/г} \pm 1,3 \text{ ммоль/г}$ в левом и $17,8 \text{ ммоль/г} \pm 0,9 \text{ ммоль/г}$ в правом желудочках по сравнению с контрольными значениями $13,1 \pm 0,9$ и $14,0 \text{ ммоль/г} \pm 1,2 \text{ ммоль/г}$), но все же значительно ниже, чем у остальных подвергнутых операции животных с теми же сроками анализа после операции — $26,5 \text{ ммоль/г} \pm 1,5 \text{ ммоль/г}$ для левого и $21,0 \text{ ммоль/г} \pm 1,5 \text{ ммоль/г}$ для правого желудочков (табл. 3). Следова-

Таблица 2. Содержание таурина в крови (%) и миокарде (ммоль/г), животных с незначительными изменениями концентрации таурина в крови после операции ($M \pm m$)

Исследуемый объект	До операции (n=6)	После операции		
		через 1 мес (n=3)	через 2 мес (n=3)	через 3 мес (n=5)
Ткань миокарда:				
правый желудочек	$14,0 \pm 1,2$	Нет свед.	Нет свед.	$27,4 \pm 1,3$
левый желудочек	$13,1 \pm 0,9$	Нет свед.	Нет свед.	$36,8 \pm 0,9$
Плазма крови	100	$87,2 \pm 9,8$	$83,0 \pm 2,5$	$83,6 \pm 10,0$

тельно, в результате операции повреждения аортального клапана сердца, моделирующей состояние недостаточности кровообращения, содержание таурина

Таблица 3. Содержание таурина в крови (%) и миокарде (ммоль/г) у животных, погибших в результате развития недостаточности кровообращения после операции ($M \pm m$)

Исследуемый объект	Сроки после операции	
	от 20 сут до 2 мес (n=4)	более 2 мес (n=4)
Ткань миокарда:		
правый желудочек	$17,8 \pm 0,9$	$24,7 \pm 0,5$
левый желудочек	$19,0 \pm 1,3$	$32,2 \pm 1,2$
Плазма крови	>200	$84,2 \pm 4,8$

в крови через 20 — 30 сут после операции возрастало в среднем в 1,5 раза, после чего за 2 — 3 мес снижалось, стабилизируясь на новом, обычно несколько более низком, чем исходном, уровне. В нескольких случаях не наблюдали максимума концентрации таурина через 20 — 30 сут после операции, и изменение содержания таурина в крови имело характер монотонного снижения. Часто в течение первых послеоперационных суток наблюдали некоторое снижение содержания таурина, сопровождающееся последующим его возрастанием к 20 — 30-м суткам. Во всех случаях, практически независимо от характера изменения концентрации таурина в крови, содержание таурина в миокарде возрастало за 1 — 2 мес после операции в 2,7 раза в левом и в 1,8 раза в правом желудочках, оставаясь в дальнейшем на том же высоком уровне в течение всей жизни животного, что согласуется с клиническими и экспериментальными наблюдениями [4, 8, 11]. При этом различие между животными, погибшими за время наблюдения в результате недостаточности кровообращения, и животными, относительно благополучно приспособившимися к послеоперационным условиям гемодинамики, проявилось лишь в период первых двух послеоперационных месяцев. У животных, погибших в этот период, перед смертью наблюдалось наиболее значительное возрастание концентрации таурина в крови и, напротив, незначительное — в миокарде.

Повреждение аортального клапана сердца вызывает два основных неблагоприятных последствия: уменьшение сердечного выброса и переполнение малого круга кровообращения с соответствующим повышением конечно-диастолического давления левого желудочка. Подобные

отклонения от нормального функционирования сердечно-сосудистой системы вызывают (посредством активации симпатической системы) усиление адренергической стимуляции силы сердечных сокращений, компенсируя неблагоприятные гемодинамические последствия операции и приводя через 2—3 мес к гипертрофии сердечной мышцы. Таурин, по-видимому, служит своего рода протектором для клеток гипертрофированного миокарда [5]. В условиях развития недостаточности [1, 5] активируются процессы, приводящие к накоплению в сердце дополнительного количества таурина.

В тех случаях, когда не происходило достаточного возрастания содержания таурина в миокарде и параллельно с этим наблюдалось чрезмерное увеличение содержания таурина в крови, животные погибали в результате развития недостаточности кровообращения. В большинстве же случаев после нормального увеличения содержания таурина в миокарде (в 2,7 раза в левом желудочке), сердечная мышца, по-видимому, адаптировалась к новому состоянию. Продолжительность жизни таких животных может составлять один год и более.

Ts. R. Orlova, V. V. Yakushkin, E. P. Elizarova

TAURINE CONTENT IN THE BLOOD AND MYOCARDIUM OF RABBITS WITH EXPERIMENTAL HEART FAILURE

Experimental damage of the aortal heart valve in rabbits caused taurine accumulation in the heart. Taurine content in the heart increased for two mounths 2.7 times in the left ventricle and 1.8 times in the right one. Taurine concentration in the blood began rising 5—10 days after the operation, reached the maximal value of about 150 % as compared with its initial level and then decreased to the level near the initial one. Animals with insignificant taurine accumulation in the heart died for the first two mounths after the operation. Results are discussed from consideration on the protective role of taurine for the myocardium under the heart failure.

Institute of Experimental Cardiology, All-Union Cardiology Research Centre,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Azuma J., Takihara K. Benefical affect of taurine on congestive heart failure induced by chronik aortik regurgitation in rabbits // Res. Commun. Chem. Path. and Pharmacol.— 1987.— 45.— P. 261—270.
2. Azuma J., Hamaguchi T. Calcium overload induced myocardial damage caused by isoproterenol and by adriamycin. Possible role of taurine in its prevention // The biology of taurine. Methods and mechanisms — New York; London : Plenum press, 1987.— P. 167—179.
3. Francioni F., Martini F. Uptake of taurine into myocardial membrane // Biochem. Pharmacol.— 1981.— 30.— P. 77—80.
4. Huxtable R. J., Bressler R. Taurine concentrations in congestive heart failure // Science.— 1974.— 184.— P. 1187—1189.
5. Huxtable R. J., Sebring L. A. Cardiovascular actions of taurine // Sulfur amino acids. Biochemical and clinikal aspects.— New York, 1983.— P. 5—37.
6. Huxtable R. J. From heart to hypothesis. A mechanism for the calcium modulatory action of taurine // The biology of taurine. Methods and mechanisms.— New York; London : Plenum press, 1987.— P. 217—226.
7. Jakobson J. G., Smith L. H. Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives // Physiol. Rev.— 1968.— 48.— P. 424—511.
8. Paasonen M. K., Himberg J. J., Solatunturi E. Taurine in platelets and heart tissue // Platelets : A multidisciplinary approach.— New York : Raven press, 1978.— P. 411—415.
9. Paasonen M. K., Himberg J. J., Solatunturi E. Tissue content of taurine in experimental hypertension // Seventh international congress of pharmacology. Abstracts.— Paris, 1978.— P. 880—882.
10. Paasonen M. K., Penttila O., Himberg J. J. Platelet taurine in patients with arterial hypertension, myocardial failure and infarction // Acta Med. Scand. (Suppl) — 1980.—

Поражение сердца, вызываемое норадреналином, и защитный эффект таурина

Сегодня катехоламинам небезосновательно отводят ведущую роль в патогенезе ишемической болезни сердца и гипертонической болезни, в реализации стрессорной реакции организма [3, 17]. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что высокие дозы норадреналина (НА) вызывают диффузноочаговые некробиотические изменения сердечной мышцы и смерть животных [17]. В опытах *in vitro* удалось воспроизвести альтерацию сердца у крысы неоднократным введением субтоксических доз НА [6, 12]. Подобные изменения миокарда были обнаружены также у человека после перенесенного стресса [2]. В связи с этим большое значение приобретает проблема поиска новых средств, способных защитить миокард при гиперкатехоламинемии. В этом плане определенный интерес представляет возможность применения таурина (аминокислоты, содержащей серу), так как известна его способность уменьшать аритмогенный эффект НА [16]. Таурин составляет около половины всех аминокислот в кардиомиоцитах, его транспорт происходит против концентрационного градиента с затратой АТФ [9, 10], а при отсутствии таурина в крови (например, у кошек) развиваются кардиомиопатия и застойная сердечная недостаточность [15].

Целью нашей работы было изучение влияния таурина на функцию сердца и энергетический обмен, происходящий в миокарде крыс, которые длительно получали НА.

Методика

В опытах использовали крыс-самцов (56 животных) линии Вистар массой 220—250 г. НА внутривенно вводили в течение 7 сут по 2 мг/кг (первые сутки), по 3 мг/кг (вторые сутки) и по 4 мг/кг (последующие сутки). Общая кумулятивная доза — 35 мг/кг. Таурин вводили через рот за 20 мин до каждой инъекции НА по 100 мг/кг. Животным контрольной группы вместо таурина вводили соответственно физиологический раствор. По прошествии недели у крыс, наркотизированных гексеналом (0,1 г/кг), извлекали сердце и перфузировали его через канюли, введенные в левое предсердие и аорту, раствором Кребса, насыщенным газовой смесью, состоящей из 95 % O_2 и 5 % CO_2 (температура раствора 37 °C, pH — 7,4). В полость левого желудочка вводили иглу, соединенную с тензометрическим датчиком фирмы «Gould Statham», марки P23Gb (США) для регистрации давления на трехканальном самописце Lineacorder MARC (Япония). Измеряли частоту сердечных сокращений (ЧСС), систолическое давление (СД), минимальное диастолическое давление (МДД) и конечное диастолическое давление (КДД) левого желудочка (ЛЖ). Рассчитывали следующие показатели функциональной способности сердца: интенсивность сократительной функции по произведению среднего давления изгнания на ЧСС, индекс работы по произведению среднего давления изгнания на минутный объем (МО) [1], растяжимость сердечной мышцы (показатель диастолической упругости желудочка) по частному от деления прироста давления за диастолу ЛЖ на прирост его объема за диастолу, т. е. на ударный объем, поскольку в условиях стабильной работы сердца они одинаковы.

Содержание в миокарде макроэргических фосфатов и креатина определяли по описанной ранее методике [5].

Результаты

Введение крысам НА в течение недели сопровождалось гибелью трети животных на 5—7-е сутки с начала введения. При введении таурина и НА все животные выжили.

© М. И. ПОПОВИЧ, В. А. КОБЕЦ, В. И. КАПЕЛЬКО, 1990.

Представленные в табл. 1 результаты изучения работы изолированного сердца свидетельствуют о том, что НА значительно снижает насосную функцию сердца, что выражалось снижением минутного объема и аортального выброса на 43 и 48% соответственно. При этом ударный объем практически не изменялся, а минутный объем уменьшался пропорционально уменьшению брадикардии, частота сокращений была ниже на 42%. Систолическое давление снизилось на 17%, а интенсив-

Таблица 1. Функциональная способность изолированного сердца крыс разных групп при давлении наполнения и сопротивления 15 и 80 см вод. ст.

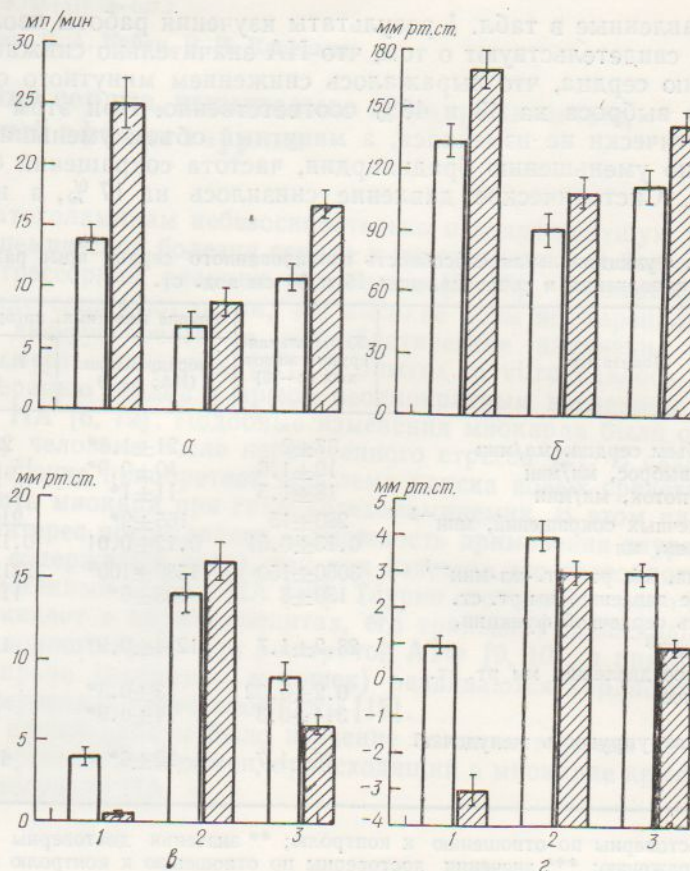
Показатель	Контрольная группа животных (n=10)	Группа животных, которым вводили	
		норадреналин (НА; n=9)	НА и таурин (n=10)
Минутный объем сердца, мл/мин	37±2	21±1,8*	28±1,7***
Аортальный выброс, мл/мин	19±1,6	10±0,9*	15,6±1,1*
Коронарный поток, мл/мин	18±1,5	11±1*	12,2±1*
Частота сердечных сокращений, мин ⁻¹	280±15	165±9*	210±12*
Ударный объем, мл	0,13±0,01	0,12±0,01	0,13±0,01
Работа сердца, мм рт. ст.·мл·мин ⁻¹	3060±150	1580±100*	2212±123***
Систолическое давление, мм рт. ст.	130±8	108±6*	119±6
Интенсивность сердечной функции, мм рт. ст.·мин ⁻³	23,2±1,7	12,4±0,9*	17±1,1***
Диастолическое давление, мм рт. ст.	0,2±0,02	3±0,3*	3±0,3*
минимальное	3,4±0,3	14±0,9*	9±0,6***
конечное	25±1,7	92±6*	46±4***
Диастолическая упругость желудочка, мм рт. ст./мл			

* Значения достоверны по отношению к контролю; ** значения достоверны по отношению к НА-поражению; *** значения достоверны по отношению к контролю и НА-поражению.

ность сократительной функции и работа сердца были почти в два раза меньше. Значительно повышалось диастолическое давление в начале и в конце диастолы, а также увеличивался в 3,7 раза показатель диастолической упругости ЛЖ.

Введение таурина с НА вызывало достоверные изменения насосной функции сердца по сравнению с таковой при введении НА. Так, минутный объем был снижен по сравнению с контролем всего на 24%, а объем аортального выброса уже не отличался достоверно от контрольного (см. табл. 1). Также несущественно отличалось от контроля и систолическое давление, но интенсивность сократительной функции была все же меньшей, чем в контроле, за счет брадикардии. Работа сердца также была меньше, чем в контроле, на 28%. При этом конечное диастолическое давление и диастолическая упругость ЛЖ существенно превышали их контрольные значения, но были существенно меньше, чем в серии с применением одного НА.

Кратковременное повышение концентрации Ca^{2+} в перфузате на 0,5—0,6 ммоль/л сопровождалось усилением насосной и сократительной функции сердца во всех опытах, но наименьший прирост наблюдался в серии с введением одного НА (рисунок). Аортальный выброс в этих опытах возрастал всего на 2 мл/мин, в то время как при введении НА и таурина — на 6 мл/мин, а в контроле — на 11 мл/мин (см. рисунок, а), прирост систолического давления в ЛЖ составил 18, 30 и 35 мм рт. ст. соответственно (см. рисунок, б). На фоне введения Ca^{2+} диастолическое давление в ЛЖ снижалось в контрольных опытах в начале и в конце диастолы на 4 мм рт. ст. (см. рисунок, в, г). Снижение значений этих показателей в серии опытов по введению одного НА было недостоверно, а при введении НА и таурина значения этих показателей достоверно снижались на 2—3 мм рт. ст.



Изменения аортального выброса (а), систолического давления (б), конечного (в) и минимального (г) диастолического давления в левом желудочке изолированного сердца крысы при его перфузировании нормальным раствором Кребса (белые столбики) и раствором Кребса, в котором на 0,5 (0,6) ммоль/л была повышена концентрация Ca^{2+} (заштрихованные столбики):

1 — контрольная группа животных; 2 — группа животных, получавших норадреналин (НА); 3 — группа животных, получавших таурин и норадреналин.

Таким образом, в условиях, сочетающих применение НА и таурина, значения показателей насосной и сократительной функций изолированного сердца снижались меньше, чем в условиях применения одного НА, или даже не отличались от контрольных значений. Кроме того, таурин частично восстанавливал практически утраченную при многократном воздействии НА инотропную реакцию сердца на повышение в перфузате содержания Ca^{2+} .

Таблица 2. Содержание энергетических метаболитов в ткани миокарда крыс разных исследуемых групп, мкмоль/г

Метаболит	Контрольная группа животных (n=8)	Группа животных, которым вводили	
		норадреналин (НА, n=9)	НА и таурин (n=10)
АТФ	20,4±1,8	11,2±1*	18,6±1,5**
АДФ	3,7±0,3	2,2±0,2*	3,1±0,2**
АМФ	2,8±0,2	3,1±0,24	3,3±0,2
Креатинфосфат	25,4±2,1	15,5±1,3*	19,4±1,3*
Креатин:			
свободный	23,4±2,2	22,7±2,1	23,8±2,1
общий	49±3,9	38,2±3,2	42,2±3,5

* Значения достоверны по отношению к контрольным; ** значения достоверны по отношению к НА-поражению.

Определение количества каждого из исследуемых нами энергетических метаболитов в 1 г высушенной ткани сердечной мышцы показало, что длительное введение сверхфизиологических доз НА сопровождается развитием выраженного энергодефицита. Так, количество АТФ оказалось ниже на 45 %, АДФ — на 41 %, а фосфокреатина — на 39 % (табл. 2). При параллельном введении таурина нарушение энергообеспечения сердца было менее значительным. Содержание фосфокреатина в миокарде уменьшалось только на 24 % ($P < 0,05$). Значения этого показателя для АТФ и других адениннуклеотидов были близки к контрольным ($P > 0,05$). Количество общего креатина в обеих экспериментальных сериях достоверно отличалось от его количества в контрольных сериях, т.е. ограничение таурином энергодефицита сердца хорошо сочеталось с улучшением его функционирования.

Обсуждение

Основные функциональные и метаболические изменения миокарда после продолжительного (7 сут) введения НА соответствовали изменениям, отмеченным нами ранее [18] после 4-недельного введения. Они являются следствием прямого повреждающего действия НА на кардиомиоциты, в результате которого гибнет часть клеток, происходит их замещение соединительной тканью и гипертрофируются сохранившиеся клетки [12]. В развитии недостаточности насосной функции сердца существенную роль (как и при других кардиомиопатиях [1, 12]), вероятно, играет повышенная диастолическая упругость миокарда и сопутствующие ей увеличение диастолического давления и ухудшение диастолического наполнения сердца.

Таурин, вводимый животным с НА, оказал значительный протективный эффект, выразившийся предотвращением уменьшения количества АТФ в миокарде, значительно меньшим снижением насосной функции сердца и меньшим повышением диастолической упругости ЛЖ. Можно думать, что защитный эффект таурина обусловлен его способностью ограничивать повреждения кардиомиоцитов.

Защитный эффект таурина может быть осуществлен несколькими механизмами. В основе повреждающего действия НА лежит перегрузка кардиомиоцитов Ca^{2+} , возникающая вследствие усиленного входа Na^{+} и Ca^{2+} . Транспорт таурина в кардиомиоциты тесно сопряжен с транспортом Na^{+} [18] и стимулируется НА [10]. Самое высокое содержание таурина наблюдается у морских рыб [9], постоянно живущих в условиях повышенной концентрации Na^{+} . Тесное сопряжение транспорта Na^{+} и таурина позволяет предполагать непосредственное участие таурина в предотвращении перегрузки клеток Na^{+} и Ca^{2+} . Такой механизм продемонстрирован при наследственной кардиомиопатии у хомяков [4], в патогенезе которой важную роль играет симпатическая активация [11]. Другой механизм связан со способностью таурина непосредственно влиять на различные звенья симпатической системы: таурин замедляет скорость использования НА в сердце, уменьшает мобилизацию НА из адренергических гранул мозгового слоя надпочечников при повышении внеклеточной концентрации K^{+} [13], нормализует повышенный симпатoadреналовый тонус у юношей с гипертензией и снижает уровень адреналина в плазме [7], ингибирует α -адренергическое действие фенилэфрина. Данные литературы, свидетельствующие о стимулирующем действии таурина на образование простагландинов (ПГ), а именно ПГ₂ — мощного вазодилататора и антиагреганта тромбоцитов [14], позволяют предполагать еще один механизм кардиопротекторного эффекта таурина, учитывая регуляцию ПГ процессов секреции и захвата катехоламинов сердцем. Показано, что ингибирование их синтеза потенцирует повреждение миокарда, вызываемое НА [2].

Продemonстрированный результатами нашей работы защитный эффект таурина при продолжительном введении субтоксических доз НА, как и данные, полученные при наследственной кардиомиопатии

[6], позволяют предполагать, что таурин может оказывать благоприятное действие при различных патологических состояниях, сочетающихся с гиперактивностью системы, например, при эмоционально-болевым стрессе [3].

М. И. Popovich, V. A. Kobets, V. I. Kapelko

THE NORADRENALINE-INDUCED HEART FAILURE AND CARDIOPROTECTION BY TAURINE

The prolonged noradrenaline treatment of rats (total dosage from 1 week — 25 mg/kg), results in greatly reduced cardiac pump function and heart rate with a pronounced increase in left ventricular diastolic stiffness. These functional changes are associated with a deficiency of energy supply, especially depletion of phosphocreatine content. The taurine administration (100 mg/kg prior to 20 min noradrenaline injection) is accompanied by reliably less essential cardiac insufficiency. Moreover, the ATP, ADP level is normal and phosphocreatine content enhances by 15 %.

Research Institute of Preventive and Clinical Medicine,
Ministry of Public Health of the Moldavian SSR,
Kishinev All-Union Research Cardiological Center,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Капелько В. И., Новикова Н. А., Голиков М. А. и др. Изменения диастолы сердца при остром и хроническом энергодифците // Вест. АМН СССР.— 1987.— № 9.— С. 42—46.
2. Косых В. А., Помойницкий В. Д. Влияние индометацина на развитие повреждения сердца крысы, вызываемое норадреналином // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1981.— № 1.— С. 33—34.
3. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений миокарда.— М.: Медицина, 1984.— 270 с.
4. Azari J., Brumbaugh P., Huxtable R. Prophylaxis by taurine in the hearts of cardiomyopathic hamsters // J. Mol. Cell. Cardiol.— 1980.— 12.— P. 1351—1366.
5. Bergmeyer H. Methods of enzymatic analysis.— New York: Acad. press, 1964.— 680 p.
6. Bhimsi S., Goodin D., McNeill J. Myocardial ischemic injury induced by isoproterenol in rabbit: biochemical and chemical alterations // Can. J. Cardiol.— 1985.— 1.— P. 282—287.
7. Fujita T., Ando K., Noda H., Sato V. Effects of increased adrenomedullary activity and taurine in young patients with borderline hypertension // Circulation.— 1987.— 75.— P. 525—532.
8. Goodwin J. Mechanisms in cardiomyopathies // J. Mol. Cell. Cardiol.— 1985.— 17.— P. 2115—2129.
9. Huxtable R. Regulation of taurine in the heart // Taurine and neurological disorders.— New York: Raven press, 1978.— P. 5—17.
10. Huxtable R., Chubbi I., Azari J. Physiological and experimental regulation of taurine content in the heart // Fed. Proc.— 1980.— 39.— P. 2685—2690.
11. Jasmin G., Proschec L. The permissive role of catecholamines in the pathogenesis of hamster cardiomyopathy // Plenum Medical book company «Advances in Myocardiology».— Moscow, 1982.— Vol. 4.— P. 45—53.
12. Kapelko V., Popovich M., Kostin S. et al. The contractile function disorders and energy supply in experimental cardiomyopathies. Important role of phosphocreatine // Schiaparelli Searle «Cardioprotection with phosphocreatine in cardiology and cardiac surgery».— Pavia, 1989.— P. 317—334.
13. Kuriyama K. Taurine as a neuromodulator // Fed. Proc.— 1980.— 39.— P. 2680—2684.
14. Phann Hun Chann, Chanine R., Phann Hun Chann A. et al. Taurine and eicosanoids in the heart // Prostagland. Leukotrein.— 1987.— 28.— P. 243—245.
15. Pion P., Kittleson M., Rogers Q., Morris J. Myocardial failure in cats associated with low plasma taurine: a reversible cardiomyopathy // Science.— 1987.— 237.— P. 764—768.
16. Read W., Wlty J. Effect of taurine on epinephrine and digoxin — induced irregularities of dog heart // J. Pharmacol. Exp. 2. Therap.— 1963.— 139.— P. 283—289.
17. Rona S. Catecholamine cardiotoxicity // J. Mol. Cell. Cardiol.— 1985.— 17.— P. 291—306.
18. Thuston S., Hanhart R., Naccarato E. Taurine: possible role in osmotic regulation of mammalian heart // Science.— 1981.— 214.— P. 1373—1374.

Молд. науч.-исслед. ин-т профилактич. и клинич. медицины
М-ва здравоохранения МССР, Кишинев
Всесоюз. кардиол. науч. центр АМН СССР, Москва

Материал поступил
в редакцию 11.06.89

Некоторые механизмы недостаточности кровообращения при септическом шоке

Профилактика и лечение септического шока по-прежнему остаются актуальными задачами современной медицины, что обусловлено высокой летальностью в результате его развития [1, 4, 7]. Невозможность существенно снизить летальность во многом объясняется отсутствием единой точки зрения на механизмы нарушений кардио- и гемодинамики, на последовательность развития сердечной и сосудистой недостаточности при септическом шоке, что отчасти связано со значительными трудностями в изучении механизмов развития септического шока в клинических условиях и с использованием недостаточно адекватных экспериментальных моделей этого процесса. Важность познания механизмов нарушений кровообращения, возникающих при развитии септического шока, не вызывает сомнений. Поэтому целью нашей работы стало изучение механизмов нарушений гемодинамики и сократительной активности миокарда при развитии септического шока.

Методика

Опыты проведены на 20 взрослых беспородных собаках обоего пола массой $12,9 \text{ кг} \pm 1,4 \text{ кг}$ под хлоралозо-уретановым ($0,02$ и $0,2 \text{ г/кг}$ соответственно) наркозом. Все животные были разделены на следующие две группы: I — контрольная, II — опытная (с очагом гнойной инфекции). Очаг моделировали нанесением на верхнюю треть левого бедра кожно-мышечной раны длиной до 10 см и глубиной $2,5\text{—}3,0 \text{ см}$, в полость которой вводили тампон, обильно смоченный 80% -ным раствором фекальных масс животного.

Для оценки кардио- и гемодинамики у животных обеих групп регистрировали и рассчитывали следующие показатели: давление в левом желудочке ($p_{\text{лж}}$), максимальную скорость его подъема и снижения ($dp/dt_{\text{макс}}$ и $dp/dt_{\text{мин}}$), среднее артериальное давление в аорте (САД) и центральное венозное давление (ЦВД) — давление в передней полой вене, время достижения $dp/dt_{\text{макс}} - t_p$, индекс сократимости Верагута — ИВ [14], индекс расслабления — ИР [5]. Ударный и минутный объем крови (УОК и МОК) определяли методом тетраполярной трансторакальной реоплетизмографии по формуле Кубичека [12]. Кроме того, регистрировали электро- и фонокардиограммы. Регистрацию экспериментальных кривых осуществляли с помощью поликардиографа марки «Mingograph-82» (ФРГ — Швеция). Напряжение газов крови и ее pH определяли с помощью микрогазоанализатора марки «Micro Astrup» (Дания).

С целью изучения изменений транскапиллярного обмена жидкости и белков катетризировали грудной лимфатический проток (ГЛП) проводили пункционную катетеризацию большой подкожной вены левой задней конечности. Измеряли скорость оттока лимфы из ГЛП, концентрацию белка в артериальной и венозной крови и лимфе, гематокрит артериальной и венозной крови. На основании полученных результатов рассчитывали «потери» воды и белка на 100 мл притекающей крови [9], транспорт белка лимфой и отношение концентраций белка в лимфе и плазме венозной крови (отношение лимфа/плазма) [3]. Для определения токсических свойств плазмы крови и лимфы использовали парамечийный тест [6]. Полученные результаты обработаны с помощью параметрического критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В течение первого часа после инфицирования раны у животных значительных изменений САД не происходило. Через 2 ч САД достоверно снизилось (на 32%). В дальнейшем это снижение прогрессировало, и к восьмому часу наблюдения САД составляло лишь 23% исходных значений (рис. 1). У животных этой группы через 1 ч после моделирования гной-

ного очага отмечалось повышение общего периферического сопротивления (ОПС) на 14 %, сменяющееся ко второму часу наблюдения его падением на 23 %. В дальнейшем ОПС продолжало уменьшаться и к восьмому часу наблюдения составило 45,6 % исходного значения. ЦВД начинало снижаться с первого же часа наблюдения, через 2 ч это снижение становилось достоверным. К третьему часу наблюдения на фоне прогрессирующего падения ЦВД и ОПС происходило достоверное снижение МОК, а еще через час — и УОК. Нарушение насосной функции

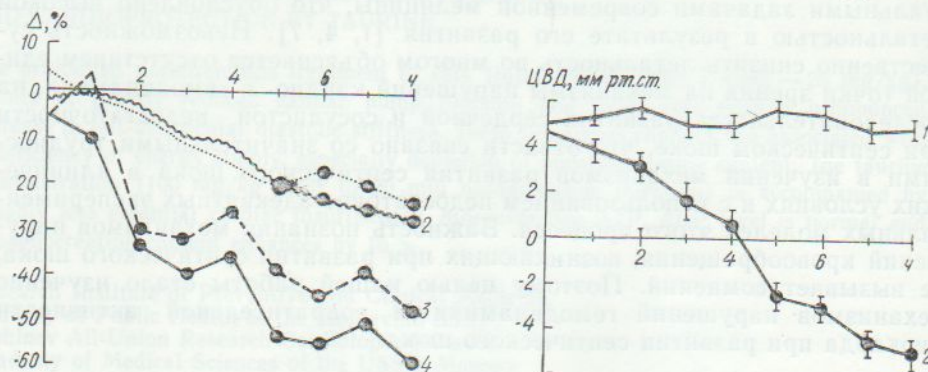


Рис. 1. Сдвиг изменений основных показателей гемодинамики у собак с гнойной раной по сравнению с животными контрольной группы:

1 — минутный объем крови (МОК); 2 — ударный объем крови (УОК); 3 — общее периферическое сопротивление (ОПС); 4 — среднее артериальное давление (САД). Здесь и на рис. 2, 3 — черные кружки означают достоверность различий ($P < 0,05$) по сравнению с контролем.

Рис. 2. Динамика давления в передней полой вене (ЦВД) у собак контрольной группы (1) и группы с очагом гнойной инфекции (2).

сердца в этот период происходило, вероятно, за счет ограничения венозного возврата крови к сердцу, так как сократительная функция миокарда оставалась относительно стабильной (рис. 2).

С пятого часа наблюдения в условиях продолжающегося падения сердечного выброса и развития выраженной гипотонии было зарегистрировано угнетение сократительной активности миокарда, что проявлялось в увеличении t_p (на 50 %), снижении $dp/dt_{\max}$ и $dp/dt_{\min}$ (на 48 и 25 % соответственно), ИВ и ИР (на 40 и 25 % соответственно). В дальнейшем эти нарушения прогрессировали, и к восьмому часу наблюдения эти показатели кардиодинамики составляли: t_p — 175 %, $dp/dt_{\max}$ — 34 %, $dp/dt_{\min}$ — 45 %, ИВ — 38 %, ИР — 42 % своих исходных значений. Необходимо отметить, что столь выраженное угнетение сократительной функции миокарда у животных с очагом гнойной инфекции не сопровождалось явлениями застоя в полых венах (рис. 3). Напротив, вопреки ожиданиям, на протяжении всего периода наблюдения происходило значительное падение ЦВД. Это свидетельствовало о сочетании у этих животных ограничения венозного возврата крови к сердцу с недостаточностью сократительной функции миокарда. Причиной ограничения венозного возврата крови к сердцу может быть как ее депонирование, так и выраженная экстравазация жидкой части крови.

У животных контрольной группы длительная фиксация и наркоз не приводили к существенным изменениям показателей кардио-и гемодинамики. Это указывает на очаг гнойной инфекции как на причину развития наблюдаемых нарушений гемодинамики и деятельности сердца. О существенном увеличении токсического воздействия на ткани органов сердечно-сосудистой системы животных развития гнойного процесса свидетельствовал прогрессирующий рост токсичности плазмы крови, выражающийся ее способностью уменьшать продолжительность жизни парameций от 394 с ± 28 с до 208 с ± 17 с ($P < 0,001$). Продолжительность жизни животных опытной группы составила 8,2 ч $\pm 0,3$ ч.

Изменения параметров транскапиллярного обмена жидкости и белков у здоровых наркотизированных животных и у животных с очагом гнойной инфекции во время развития септического шока ($M \pm m$)

Группа животных, период наблюдения	«Потеря» артериальной кровью				Скорость				Отношение: лимфа/плазма, усл. ед.	Р
	воды, мл/100 мл	Р	белка, мг/100 мл	Р	лимфооттока, мкл/мин·кг	Р	транспорта белка, мг/мин·кг	Р		
Контрольная группа животных: до введения нар-коза после введения наркоза	+7,47±0,84	—	+0,23±0,05	—	36,1±6,0	—	1,36±0,10	—	0,62±0,02	—
	+4,00±1,80	—	+0,22±0,08	—	26,2±5,2	—	1,24±0,09	—	0,62±0,05	—
	+3,16±1,80	—	+0,24±0,07	—	25,8±5,6	—	1,18±0,07	—	0,61±0,03	—
	+5,16±1,22	—	+0,20±0,06	—	26,0±6,2	—	1,10±0,06	—	0,62±0,03	—
	+3,36±1,22	—	+0,13±0,05	—	26,3±4,9	—	1,11±0,07	—	0,63±0,05	—
	+1,24±2,21*	—	+0,04±0,02	—	26,2±4,2	—	1,08±0,08	—	0,63±0,05	—
	+0,27±0,98*	—	+0,03±0,01*	—	21,4±4,2	—	1,12±0,13	—	0,64±0,07	—
	-3,02±2,12*	—	+0,03±0,01*	—	20,8±2,7*	—	1,09±0,11	—	0,65±0,07	—
	-4,83±2,12*	—	-0,07±0,01*	—	16,5±3,7*	—	0,92±0,08*	—	0,64±0,07	—
Опытная группа животных: до инфуцирования после инфуцирования	+6,47±1,61	>0,05	+0,26±0,02	>0,05	37,8±4,1	>0,05	1,74±0,08	>0,05	0,61±0,02	>0,05
	+2,14±0,83*	<0,05	+0,10±0,02*	<0,01	51,8±5,1	<0,01	1,86±0,03	<0,05	0,65±0,03	>0,05
	-0,09±0,91*	<0,01	-0,03±0,02*	<0,01	44,0±4,1	<0,05	2,06±0,09	<0,05	0,68±0,06	>0,05
	-4,19±2,14*	<0,01	-0,32±0,16*	<0,001	44,6±2,9	<0,05	2,32±0,06*	<0,01	0,69±0,04	>0,05
	-4,12±2,12*	<0,01	-0,33±0,14*	<0,001	40,6±4,9	<0,05	2,44±0,11*	<0,01	0,74±0,05*	>0,05
	-5,21±2,41*	<0,01	-0,32±0,16*	<0,01	43,8±5,2	<0,05	2,34±0,09*	<0,01	0,78±0,05*	>0,05
	-5,81±2,23*	<0,01	-0,35±0,07*	<0,01	41,6±5,5	<0,05	2,58±0,04*	<0,001	0,08±0,02*	>0,05
	-6,24±2,42*	<0,05	-0,39±0,09*	<0,01	41,2±5,6	<0,05	2,70±0,03*	<0,001	0,81±0,03*	>0,05
	-7,83±1,26*	<0,05	-0,46±0,19*	<0,01	48,0±1,6	<0,01	2,88±0,09*	<0,001	0,78±0,03*	>0,05

* Различия достоверны ($P < 0,05$) по сравнению с исходными значениями показателей.

Вполне вероятно, что уменьшение сократительной активности миокарда у животных с очагом гнойной инфекции могло быть следствием ограничения коронарной перфузии [1, 4] и (или) отрицательного инотропного влияния бактериальных токсинов [2].

С первого же часа наблюдения развитие гнойного процесса у животных сопровождалось значительными «потерями» жидкой части плазмы и белков из сосудистого русла (таблица). Достоверных изменений скорости оттока лимфы по сравнению с исходными значениями не было, однако, если сопоставить полученные в группе инфицированных жи-

вотных результаты с результатами измерения скорости лимфооттока у животных контрольной группы, то можно отметить достоверное ее увеличение. Транспорт белка лимфой возрастал, отношение: лимфа/плазма также увеличивалось, что было обусловлено высокой концентрацией белка в лимфе. Более значительному росту скорости лимфооттока, что должно было бы происходить при высокой транссудации жидкос-

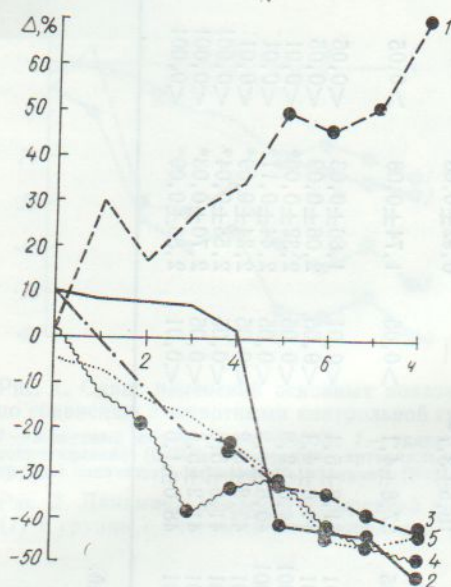


Рис. 3. Сдвиг изменений основных показателей кардиодинамики у собак с гнойной раной по сравнению с животными контрольной группы (0-й уровень):

1 — время достижения $dp/dt_{\text{макс}}$; 2 — максимальная скорость подъема давления в левом желудочке ($P_{\text{лж}}$); 3 — индекс сократимости Верагута; 4 — индекс расслабления; 5 — максимальная скорость снижения $P_{\text{лж}}$.

ти и белков в интерстициальное пространство, по-видимому, препятствовало известное угнетающее действие микробных токсинов на моторную активность лимфатических сосудов [9, 10].

С четвертого часа наблюдения у животных опытной группы к нарушениям гемодинамики и транскапиллярного обмена присоединялись выраженная артериальная гипоксемия и метаболический ацидоз. К восьмому часу наблюдения значения pO_2 и pH артериальной крови составили 29,1 мм рт. ст. $\pm$ 1,9 мм рт. ст. и 7,099 мм рт. ст. $\pm$ 0,001 мм рт. ст. соответственно ($P < 0,001$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что описываемый процесс имеет характерные признаки шоковой реакции: гипотония, гипоксемия, метаболический ацидоз. Наличие первичного гнойного очага приближает эту модель к реальным клиническим условиям, что позволяет ее использовать для изучения механизмов нарушения кровообращения при септическом шоке. Вероятно, в развитии этих нарушений (на примере модели) существенную роль играют такие медиаторы шока, как простагландины, лейкотриены, тромбоцитарноактивирующий фактор и др. [8, 11, 13], которые при введении животным способны в значительной мере воспроизводить наблюдаемую нами картину изменений кардио- и гемодинамики. Особенно выражены в условиях предлагаемой нами модели септического процесса явления экстравазации жидкой части крови. Как результат резкого увеличения сосудистой проницаемости они начинаются раньше всех других изменений гемодинамики и могут быть основной причиной большинства нарушений системного кровообращения. Выход значительных объемов жидкой части крови во внесосудистое пространство резко уменьшает внутрисосудистый объем крови, что наряду с венодилатацией может быть решающим моментом для развития ограничения венозного возврата крови к сердцу и падения артериального давления. Определенный вклад в развитие гипотонии вносит

также и наблюдаемое нами снижение сосудистого сопротивления. Сочетание ограничения венозного возврата крови к сердцу с выраженной гипотонией приводит в итоге к нарастающему со временем падению сердечного выброса и угнетению сократительной функции миокарда. Такими нам представляются механизмы нарушений кардио-и гемодинамики при генерализации гнойного процесса и развитии септического шока.

A. S. Khromov, V. F. Sagach, A. V. Dmitrieva, L. B. Doloman

SOME MECHANISMS OF CIRCULATION FAILURE AT SEPTIC SHOCK

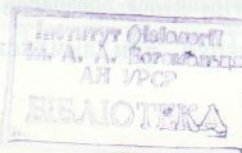
The main parameters of hemodynamic and myocardial contractile activity, transcapillary fluid and proteins exchange have been studied in healthy and infected anaesthetized dogs with source of purulent infection during septic shock development. Besides, blood gas tension, pH and toxicity of blood and lymph are determined as well. It is shown that damage of microcirculation promoting tissue hypoxia and endogenous intoxication, is responsible for the initiation of decompensating disturbance of circulation at pus process generalization.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Белокуров Ю. Н., Граменицкий А. Б., Молодкин В. М. Сепсис.— М.: Медицина, 1983.— 128 с.
2. Велков З. А., Лолов Р. В., Николов Н. А. Влияние эндотоксина на сердечно-сосудистую систему // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1989.— № 1.— С. 45—49.
3. Евтушенко А. Я., Разумов А. С., Иванова Н. А. Роль нарушений транкапиллярного обмена в развитии постреанимационной патологии // Анест. и реан.— 1987.— № 1.— С. 50—52.
4. Лыткин М. И., Костин Э. Д., Костюченко А. Л., Терешин И. М. Септический шок.— Л.: Медицина, 1980.— 240 с.
5. Меерсон Ф. З., Капелько В. И. Современные представления о механизме сокращения и расслабления сердечной мышцы // Успехи физиол. наук.— 1978.— № 4.— С. 21—41.
6. Пафомов Г. А., Ширинова М. Н., Бурдыча Ф. А. Экспресс-метод для выявления токсических свойств крови и лимфы с помощью параметрий при экзо- и эндогенных отравлениях // Сов. медицина.— 1980.— № 1.— С. 42—45.
7. Раны и раневая инфекция / Под. ред. М. И. Кузина, Б. М. Костюченко.— М.: Медицина, 1981.— 688 с.
8. Сагач В. Ф. Механизмы нарушений кардио- и гемодинамики иммунного генеза: Дис. ... д-ра мед. наук.— Киев, 1986.— 48 с.
9. Селезнев С. А., Назаренко Т. И., Зайцев В. С. Клинические аспекты микрогемодиализации.— Л.: Медицина, 1985.— 208 с.
10. Ellias R., Johnston M., Hayashi A. et al. Decreased lymphatic pumping after intravenous endotoxin administration in sheep // Amer. J. Physiol.— 1987.— 253, N 6, Pt. 2.— P. H1349—H1357.
11. Feuerstein G., Hallenbeck I. Leukotriene in health and diseases // FASEB J.— 1987.— № 1.— P. 186—192.
12. Kubicek W., Patterson R., Witsoe D. Impedance cardiography as a noninvasive method of monitoring cardiac function and other parameters of cardiovascular system // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1970.— 170, № 2.— P. 724—732.
13. Lefer A. M. Eicosanoids as mediators of ischemia and shock // Fed. Proc.— 1985.— 44, № 2.— P. 275—280.
14. Veragut P., Krayenbuhl H. Estimation and quantification of myocardial contractility in the closed-chest dogs // Cardiologia.— 1965.— 47, № 2.— P. 96—112.

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

Материал поступил
в редакцию 17.05.90



Изменения поздних компонентов соматосенсорных вызванных потенциалов у человека при парной стимуляции

Для объективизации оценки состояния центральных механизмов соматосенсорного восприятия, механизмов восприятия боли и обезболивания у человека в настоящее время достаточно широко применяется измерение параметров сравнительно поздних компонентов вызванных потенциалов (ВП) мозга (латентный период более 50—80 мс) в ответ на соматосенсорную стимуляцию [1, 3, 4, 7, 10]. Результаты анализа поздних компонентов ВП на повторяющиеся через определенные интервалы стимулы при применении раздражения различной модальности показывают наличие выраженной зависимости амплитуды различных поздних компонентов ВП от значения межстимульного интервала [6, 9, 12, 13]. Данные о такой зависимости важны для выяснения механизма генеза поздних компонентов и их анализа в клинических исследованиях. При изучении соматосенсорных ВП на стимулы болевой интенсивности зависимость между продолжительностью межстимульного интервала и выраженностью разных компонентов определялась для интервалов 1 с и более. Мы же предполагали изучить особенности изменения разных компонентов соматосенсорных ВП при более коротких межстимульных интервалах в условиях парной стимуляции, а не непрерывно повторяющейся. Кроме того, в задачу входило определение зависимости амплитуды различных компонентов ВП от выраженности этих компонентов в ответе на предшествующий стимул.

Методика

Исследования проведены на 16 практически здоровых добровольцах обоего пола 20—42 лет. Исследовали ВП на электрокожное раздражение пальцев руки (безымянного и мизинца) с помощью накожных биполярных электродов одиночными прямоугольными импульсами тока длительностью 0,5 мс. Применяли парную стимуляцию одного из пальцев, при которой два последовательных раздражения были одинаковы по интенсивности и локализации (первый способ), а также стимуляцию, когда кондиционирующее и тестирующее раздражения прикладывали к разным пальцам (второй способ). При первом способе раздражения стимулы прикладывали к мизинцу с межстимульным интервалом 600—1000 мс. Интенсивность раздражения подбирали равной субъективному болевому порогу, т. е. она являлась минимальной для появления болевого ощущения. Пары стимулов, межстимульный интервал которых составил 600 мс, наносили сериями по 15—20. Их чередовали с сериями пар стимулов, характеризующихся большим межстимульным интервалом (800—100 мс). Предполагалось, что такое чередование серий стимулов снизит влияние на результаты сравнения постепенно развивающегося привыкания. Общая сумма пар стимулов, у которых был одинаковый интервал, составляла 55—65. При втором способе стимуляции кондиционирующий стимул был приложен к безымянному пальцу, а тестирующий через 600 мс к мизинцу. Интенсивность тестирующего стимула подбирали равной болевому порогу, тогда как интенсивность кондиционирующего раздражения была либо равна болевому порогу, либо превышала его в 1,5—2,0 раза. При этом серии из 15—20 пар кондиционирующего и тестирующего стимулов чередовали сериями из 15—20 одиночных тестирующих раздражений (контроль). Интервалы между парами стимулов во всех сериях были непостоянными и колебались в диапазоне 6—12 с.

Отведение ЭЭГ для последующего выделения ВП осуществляли монополярно в области вертекса с помощью хлорсеребряного электрода, заполненного электропроводящей пастой. Для учета артефактов, обусловленных морганием, регистрировали также ЭЭГ во фронтальной области. Индифферентный электрод размещали на мочке уха. Регистрацию потенциалов проводили с помощью энцефалографа при параметрах поло-

© В. В. ГАРКАВЕНКО, Л. И. ЛИМАНСКАЯ, М. Т. КАПУСТИНА, А. Б. КАЛЬМУЦКИЙ, 1990

сы пропускания частот 30 Гц и 0,3 с. Потенциалы с выхода энцефалографа регистрировали на магнитную ленту магнитографа для последующего анализа на ЭВМ. Выделение и анализ ВП проводили по фрагментам ЭЭГ продолжительностью 1 600 мс, начиная с момента предъявления первого стимула (дискретность 5 мс). Фрагменты ЭЭГ с артефактами из анализа исключали.

Фрагменты ЭЭГ одного и того же испытуемого, зарегистрированные при стимуляции, характеризующейся определенным межстимульным интервалом, составляли набор G . После усреднения фрагментов определяли амплитуды компонентов ВП на первый стимул и их изменения на второй. Анализировали хорошо выраженные обычно при отведении от вертекса отрицательный и последующий положительный компоненты, составляющие комплекс, известный в литературе как «вертекс-потенциал», первоначально выделенный в ответах на слуховые стимулы [5]. Отрицательный и положительный компоненты вертекс-потенциала в ответе на первый стимул обозначали N_1 и P_1 , а в ответе на второй стимул — N_2 и P_2 соответственно. Амплитуду каждого компонента ВП измеряли разностью потенциалов между вершинами данного и предшествующего компонентов. Латентный период компонентов ВП определяли, измеряя интервал времени от момента нанесения стимула до максимума амплитуды соответствующего компонента. Для определения зависимости между изменениями амплитуды N_1 и N_2 проводили селективное усреднение фрагментов G в соответствии с амплитудой компонента N_1 . При этом фрагменты G разделяли на две группы по значению потенциала, латентный период которого равен латентному периоду N_1 . Первую группу составляли фрагменты, в которых значения данной переменной были больше, а вторую — были равны или меньше амплитуды N_1 . После усреднения фрагментов в первой и второй группах получали две дополнительные кривые и затем определяли различия между ними как по амплитуде N_1 , так и по амплитуде N_2 . По результатам сравнения этих различий судили о зависимости, возникшей между амплитудой N_1 и N_2 при изменении амплитуды N_1 . Аналогично определяли зависимость между амплитудой N_1 и N_2 при изменении амплитуды N_2 , а также зависимость между амплитудой P_1 и P_2 при изменении амплитуды P_1 , либо при изменении амплитуды P_2 .

Результаты и их обсуждение

В ответах на одиночное раздражение в результате усреднения достаточно четко проявлялась последовательность нескольких волнообразных колебаний потенциала в интервале 70—450 мс после стимула. Наиболее выраженные волны или компоненты ВП обозначали в соответствии с их полярностью и промежуточным значением латентного периода. Выделяли положительные компоненты P_{90} и P_{250} , а также отрицательные — N_{150} и N_{380} . Компоненты N_{150} и P_{250} относились к исследуемым в настоящей работе компонентам вертекс-потенциала. Они были достаточно хорошо выражены у всех испытуемых.

При применении парного раздражения исследуемый комплекс потенциалов обычно можно было идентифицировать и в ответе на второй стимул. Однако амплитуда как N_{150} и P_{250} в ответе на второй стимул была меньше, чем в ответе на первый. Уменьшение амплитуды каждого из компонентов определяли по отношению разности амплитуды данного компонента на первый и второй стимулы к его амплитуде в ответе на первый стимул. Это уменьшение для обоих компонентов у одного и того же испытуемого зависело от интервала между стимулами и, как правило, при увеличении межстимульного интервала снижалось. Так, например, у одного из испытуемых амплитуда компонентов N_{150} и P_{250} уменьшалась на второй стимул на 58 и 44 % соответственно при межстимульном интервале 600 мс и на 33 и 23 % соответственно при интервале 900 мс (рис. 1, а). Следует отметить, что у разных испытуемых уменьшение амплитуды на второй стимул для обоих компонентов при одних и тех же межстимульных интервалах было неодинаковым.

В большинстве случаев уменьшение амплитуды для компонента N_{150} было более выраженным, чем для компонента P_{250} , и наиболее четко такое различие проявилось при межстимульном интервале 600 мс ($P < 0,01$ по критерию Вилкоксона [2]). Так, из 13 испытуемых, в отве-

те которых на второй стимул при первом способе стимуляции с интервалом 600 мс можно было идентифицировать комплекс компонентов N_{150} и P_{250} , только у двух уменьшение амплитуды для компонентов N_{150} и P_{250} было практически одинаковым, тогда как у 11 из 13 — значения этого показателя для компонента N_{150} были выше, чем для компонента P_{250} . У разных испытуемых уменьшение амплитуды для N_{150} было в интервале 38—76 % (в среднем 58 %, ошибка среднего 3,6 %), а для P_{250} — в интервале 29—50 % (в среднем 40 %, ошибка среднего 1,9 %). У трех из 16 испытуемых при интервале 600 мс N_{150}

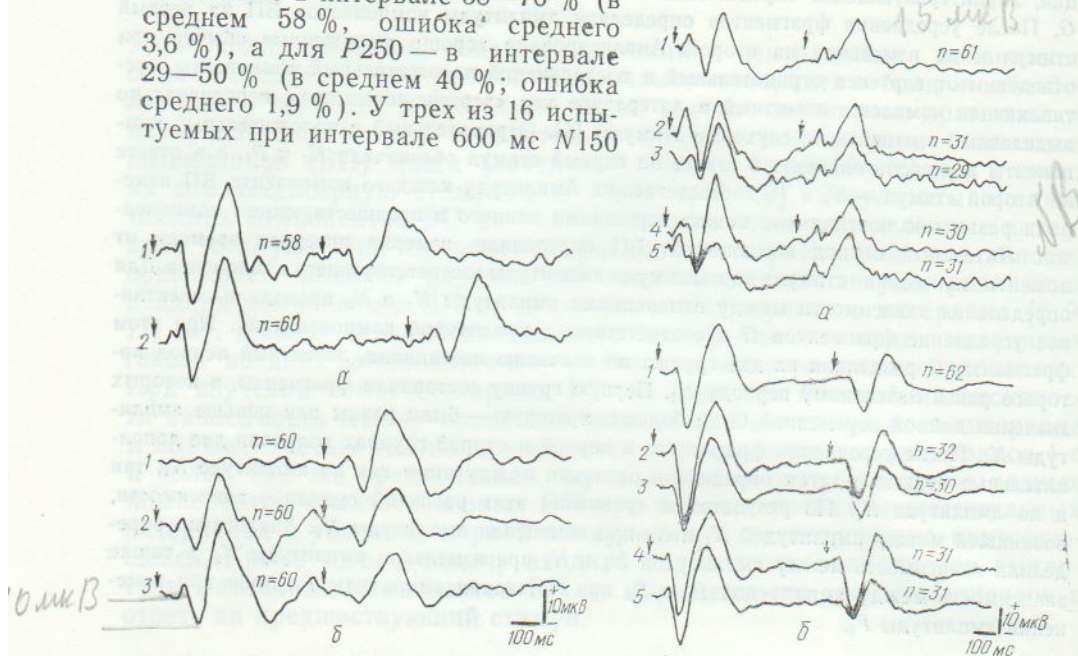


Рис. 1. Уменьшение амплитуды компонентов вызванных потенциалов (ВП) в ответ на повторное соматосенсорное раздражение у человека:

а — ВП, два последовательных одинаковых по интенсивности (равной одному болевому порогу) раздражения прикладывали к одному пальцу — мизинцу правой руки (1 — межстимульный интервал 600 мс, 2 — 900 мс); *б* — ВП, кондиционирующее и тестирующее раздражения прикладывали к разным пальцам (1 — одиночное раздражение мизинца, 2 — кондиционирующее раздражение безымянного пальца интенсивностью один болевой порог, 3 — полтора болевых порога).

Рис. 2. Вызванные потенциалы (ВП) двух испытуемых (*а*, *б*) при селективном усреднении ВП:

1 — в ответ на парное раздражение без дифференциации фрагментов ЭЭГ; 2—5 — после разделения фрагментов ЭЭГ по значению переменной, латентный период которой равен латентному периоду компонентов N_1 (на *а* и *б* — 2, 3), P_1 (на *а* — 4, 5) и N_2 (на *б* — 4, 5). Пояснение в тексте.

в ответе на второй стимул не выделялся. У двух из них не выделялся также и P_{250} .

При применении стимуляции разных пальцев так же, как и при первом способе стимуляции, обнаруживалось четкое снижение амплитуды обоих компонентов в ответе на второй стимул, причем уменьшение амплитуды также было для N_{150} более выраженным. При увеличении интенсивности кондиционирующего раздражения уменьшение амплитуды для обоих компонентов росло (рис. 1, *б*).

При проведении селективного усреднения G в соответствии с амплитудой N_1 , т. е. по двум группам фрагментов, разделенных по значению потенциала, латентный период которого равен латентному периоду N_1 , были получены две кривые, которые отличались по амплитуде N_1 (относительные значения) существенно больше, чем по амплитуде N_2 . Аналогично, при проведении селективного усреднения G в соответствии с амплитудой N_2 различие полученных кривых по амплитуде N_2 также более чем в 1,5—2 раза превышало различие по амплитуде N_1 . Подобные соотношения получены также и между относительными значениями амплитуд P_1 и P_2 на соответствующих кривых при селективном усреднении G в соответствии с амплитудами P_1 и P_2 .

На рис. 2 приведены результаты анализа ВП двух испытуемых на парное раздражение мизинца. Кривые 2 и 3 на позиции *а* получены

при селективном усреднении G одного из испытуемых в соответствии с амплитудой N_1 . Амплитуда N_1 на кривой 3 составляет лишь 38 % амплитуды N_1 на кривой 2. Амплитуда N_2 при аналогичном сопоставлении отличалась меньше и на кривой 3 составляла 59 % его амплитуды на кривой 2. При селективном усреднении G того же испытуемого в соответствии с амплитудой P_1 амплитуда этого компонента на кривой 5 уменьшалась на 69 % по сравнению с амплитудой P_1 на кривой 4, тогда как амплитуда P_2 на кривой 5 несколько больше, чем на кривой 4 (на 11 %). При селективном усреднении G другого испытуемого в соответствии с амплитудой N_1 его амплитуда на кривой 3 по сравнению с кривой 2 уменьшалась на 47 %, тогда как амплитуда N_2 при этом уменьшалась на 17 % (рис. 2, б). При селективном усреднении G того же испытуемого в соответствии с амплитудой N_2 его амплитуда на кривой 5 была меньше, чем на кривой 4 на 73 %, тогда как амплитуда N_1 — только на 9 %.

Результаты селективного усреднения G различных испытуемых в соответствии с амплитудой одного из компонентов в ответе на первый (или на второй) стимул показывают, что на кривой с большей амплитудой этого компонента достаточно часто (56 — 68 % наблюдений) была больше амплитуда аналогичного компонента и в ответе на второй (или на первый) стимул. Полученные результаты свидетельствуют о наличии определенной положительной зависимости между изменениями аналогичных компонентов в ответах на первый и второй стимулы ($P < 0,05$ по критерию Вилкоксона [2]).

Проведенные исследования показали, что комплекс отрицательного и последующего положительного компонентов вертекс-потенциала в ответе на соматосенсорное раздражение болевой интенсивности может воспроизводиться и на такое же повторное раздражение, следующее через 600—1000 мс после первого, хотя при этом происходит значительное уменьшение амплитуды обоих компонентов. Наиболее выраженное уменьшение амплитуды в ответе на второй стимул наблюдается при интервале 600 мс, причем в этом случае снижение амплитуды N_{150} в ответе на повторный стимул обычно начительнее, чем амплитуды P_{250} .

Известно, что увеличение интенсивности раздражения в широком диапазоне ведет к увеличению амплитуды поздних компонентов соматосенсорных ВП [1, 8, 11]. В настоящем исследовании при увеличении интенсивности кондиционирующего раздражения и, как следствие, увеличении амплитуды поздних компонентов в ответе на это раздражение, наблюдалось дополнительное уменьшение амплитуды компонентов в ответе на тестирующее раздражение, приложенное через 600 мс. В то же время значительное увеличение амплитуды компонентов ВП в ответе на кондиционирующий стимул при неизменной силе раздражения в результате селективного усреднения не сопровождается снижением амплитуды ВП в ответе на тестирующее раздражение. Эти результаты, вероятно, отражают значительную независимость следовых изменений в системе генеза поздних компонентов ВП от уровня их предшествующей активации. Существование положительной зависимости между изменениями амплитуды соответствующих компонентов в ответах на первый и второй стимулы, возможно, объясняется определенной динамикой периодов повышения и снижения активности генераторов поздних компонентов ВП и достаточно высокой вероятностью предъявления обоих стимулов при интервале между ними до 1000 мс в период, соответствующий примерно одинаковому уровню активности этих генераторов.

V. V. Garkavenko, L. I. Limanskaya, R. A. Vasilieva, E. A. Vashchenko

THE INFLUENCE OF STIMULUS INTENSITY ON THE VARIABILITY AND INTERACTION OF SOME LATE COMPONENTS OF THE HUMAN SOMATOSENSORY EVOKED POTENTIALS

Human evoked potentials to somatosensory stimuli of non-painful and painful intensity recorded from the vertex have been studied. The indices of variability of N150 and P250 components registered in the same subject as well as indices of interrelationship between spontaneous changes of these components decreased when stimulus intensity increased. A supposition is advanced that the role of general source responsible for generations N150 and P250 components diminished when stimulus intensity increased, accordingly participation of autonomic sources became more prominent.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенков Л. Р., Мельничук П. В. Центральные механизмы афферентации у человека.— М.: Медицина, 1985.— 272 с.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия.— М.: Высш. шк., 1980.— 293 с.
3. Лившиц А. В., Поляк Б. И., Соколова А. А. Применение метода регистрации соматосенсорных потенциалов для оценки интенсивности болевой стимуляции и эффективности противоболевых стимулов // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1984.— 84, № 4.— С. 489—494.
4. Мейзеров Е. Е., Решетняк В. К., Таулуев А. М., Дуриян Р. А. Соматосенсорные вызванные потенциалы и их динамика у больных невралгией тройничного нерва в процессе рефлексотерапии // Там же.— 1986.— 86, № 12.— С. 1795—1798.
5. Рутман Э. М. Вызванные потенциалы в психологии и психофизиологии.— М.: Наука, 1979.— 213 с.
6. Angel R. W., Quick W. M., Boylis C. C. et al. Decrement of somatosensory evoked potentials during repetitive stimulation // Electroenceph. Clin. Neurophysiol.— 1985.— 60, N 4.— P. 335—342.
7. Bromm B. Evoked cerebral potential and pain // Adv. Pain Res. and Ther.— 1985.— 9.— P. 305—329.
8. Carmon A., Friedman Y., Cogger R., Kenton B. Single trial analysis of evoked potentials to noxious thermal stimulation in man // Pain.— 1980.— 8, N 1.— P. 21—32.
9. Chapman C. R., Colpitts Y. H., Mayeno J. K., Gagliardi G. J. Rate of stimulus repetition changes evoked potential amplitude: dental and auditory modalities compared // Exp. Brain Res.— 1981.— 43, N 3—4.— P. 246—252.
10. Chapman C. R., Jacobson R. C. Assessment of analgesia state: can evoked potentials play a role? // Pain measurement in man. Neurological correlates of pain / Ed. B. Bromm.— Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. B. V., 1984.— P. 233—256.
11. Chen A. C. N., Chapman C. R., Harkins S. W. Brain evoked potentials are functional correlates of induced pain in man // Pain.— 1979.— 6, N 3.— P. 365—374.
12. Jacobson R. C., Chapman C. R., Gerlach R. Stimulus intensity and inter-stimulus interval effects on pain-related cerebral potentials // Electroenceph. Clin. Neurophysiol.— 1985.— 62, N 5.— P. 352—363.
13. Roth W. T., Horvath T. B., Pfefferbaum A., Kopell B. S. Event-related potentials in schizophrenics // Ibid.— 1980.— 48, N 2.— P. 127—139.

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

Материал поступил
в редакцию 26.11.89

Влияние интенсивности стимуляции на вариабельность и взаимосвязь некоторых поздних компонентов соматосенсорного вызванного потенциала у человека

При решении задачи объективизации болевых ощущений, исследовании нейрофизиологических механизмов, лежащих в основе восприятия боли у человека, в настоящее время значительное внимание уделяется анализу соматосенсорных вызванных потенциалов (ВП) на стимуляцию различной (болевой и неболевой) интенсивности. Выявлена достаточно четкая корреляция интенсивности стимуляции (субъективной оценки вызванного ощущения) и выраженности сравнительно поздних компонентов ВП [5, 7—9]. При анализе ВП определенной помехой обычно является его вариабельность, обусловленная как фоновой электроэнцефалографической (ЭЭГ) активностью, так и собственно вариабельностью ВП. Однако вариабельность ВП является также и его существенной характеристикой, используемой в анализе. Известно, что вариабельность компонентов ВП зависит от развития или созревания нервной системы, наличия психопатологической симптоматики [4, 6]. В то же время в экспериментальных условиях зависимость вариабельности соматосенсорных ВП от параметров стимуляции, в частности, от интенсивности раздражения, не изучена. Не изучена также зависимость «спонтанных» изменений компонентов ВП при неизменных условиях стимуляции от выраженности таких изменений в предшествующих компонентах. Можно полагать, что данные о такой зависимости могут быть применены для оценки связи между механизмами генеза разных компонентов ВП.

Задачей проведенного нами исследования было изучение влияния интенсивности соматосенсорной стимуляции на вариабельность поздних компонентов ВП человека, а также на взаимосвязь их «спонтанных» изменений.

Методика

Исследования проведены на 12 практически здоровых добровольцах обоего пола (21—39 лет). Испытуемые были ознакомлены с задачами исследования. Исследовали ответы на электрокожную стимуляцию мизинца руки, которую осуществляли с помощью накожных биполярных электродов одиночными прямоугольными импульсами тока длительностью 0,5 мс. Применяли раздражение неболевой и болевой интенсивности. Силу раздражения подбирали в соответствии с ее субъективной оценкой испытуемым. Неболевым служило раздражение интенсивностью, являющейся максимальной в доболевым диапазоне. В качестве болевого применяли раздражение, в 1,5—2,0 раза превышающее по интенсивности силу тока, вызывающую минимальное болевое ощущение.

Регистрировали по 60—70 ответов на болевое и неболевое раздражения. Стимулы различной интенсивности предъявляли поочередно сериями по 20—30. Применяли аperiodическую стимуляцию, межимпульсный интервал которой составлял 5—12 с. Отведение ЭЭГ для последующего выделения ВП осуществляли монополярно в области вертекса с помощью хлорсеребряного электрода, заполненного электропроводящей пастой. Для учета артефактов, обусловленных морганием, регистрировали также ЭЭГ фронтальной области. Индифферентный электрод размещали на мочке уха. Регистрацию потенциалов проводили с помощью электроэнцефалографа при параметрах полосы пропускания частот 30 Гц и 0,3 с. Потенциалы с выхода электроэнцефалографа регистрировали на магнитную ленту магнитографа для последующего анализа на ЭВМ. Выделение и анализ ВП проводили по постстимульным фрагментам ЭЭГ продолжительностью 1000 мс (дискретность 5 мс). Фрагменты ЭЭГ с артефактами из анализа исключали. Определение вариабельности компонентов ВП проводили по полному набору постстимульных фрагментов ЭЭГ одного и того же испытуемого при одинаковой силе раздра-

жения (G_0). В результате усреднения каждого G_0 получали по 2 ВП для всех 12 испытуемых: при меньшей и большей силе раздражения. Анализировали хорошо выраженные обычно при отведении от вертекса отрицательный и последующий положительный компоненты, составляющие комплекс, известный в литературе как вертекс-потенциал, первоначально выделенный в ответах на слуховые стимулы [3]. Отрицательный и положительный компоненты вертекс-потенциала обозначали как N и P соответственно. Латентный период компонентов измеряли по латентному периоду их вершин. Амплитуду компонентов ВП определяли по разности потенциалов между вершинами исследуемого и предшествующего компонентов. Амплитуду N и P обозначали как AN и AP соответственно.

Вариабельность N и P на каждом наборе G_0 определяли по коэффициенту вариации (C_v) потенциалов, латентный период которых был равен латентному периоду N и P и обозначенных как xN и xP соответственно. О зависимости изменений N и P судили по коэффициенту корреляции (r) между xN и xP . Кроме того, для оценки вариабельности компонентов вертекс-потенциала и зависимости между изменениями их амплитуды определяли индекс вариабельности (I_v) и индекс связи (I_r) соответственно по результатам селективного усреднения фрагментов G_0 . Для селективного усреднения по N в G_0 выделяли группу фрагментов G_1 , в которых xN была больше AN . Для селективного усреднения по P в G_0 выделяли группу фрагментов G_2 , в которых xP была больше AP . После усреднения фрагментов в каждой из выделенных групп получали дополнительные ВП с амплитудой N и P , равной AN_1 и AP_1 соответственно для G_1 , а также AN_2 и AP_2 соответственно для G_2 . Пример селективного усреднения ВП одного из испытуемых при неболевой стимуляции приведен на рис. 1. I_v для N определяли по отношению $[(AN_1 - AN) / AN] \cdot 100$, %, а I_v для P — по отношению $[(AP_2 - AP) / AP] \cdot 100$, %. I_r определяли по отношению $[(AP_1 - AP) / (AN_1 - AN)] \cdot 100$, %. Оценку достоверности различий C_v , r , I_v и I_r проводили по критерию t Стьюдента и критерию Вилкоксона [2].

Результаты

Исследуемый комплекс отрицательного и последующего положительного поздних компонентов ВП был достаточно четко выражен у всех 12 испытуемых при обеих интенсивностях стимуляции. Латентный период отрицательного колебания потенциала варьировал у разных испытуемых от 120 до 190 мс, а положительного — от 220 до 280 мс. Эти колебания в соответствии с их полярностью и промежуточным значением латентного периода обозначали как $N150$ и $P250$ соответственно. Положительное колебание, предшествующее $N150$, и отрицательную волну, развивающуюся после $P250$, обозначали как $P90$ и $N380$ соответственно.

Помимо латентных периодов поздние компоненты ВП у разных испытуемых могли значительно различаться амплитудой и формой (рис. 2). Компоненты $P90$ и $N380$ в некоторых случаях практически не были выражены. Следует отметить, что конфигурация поздних компонентов ВП сохраняла значительное сходство при разных силах стимуляции у одного и того же испытуемого, т. е. характеризовалась достаточно высокой индивидуальной устойчивостью (см. рис. 2).

Амплитуда $N150$ и $P250$ при изменении интенсивности раздражения в большинстве случаев заметно изменялась. Так, при увеличении силы раздражения амплитуда $N150$ увеличилась у 10 испытуемых на 14—68 % и у одного — практически не изменилась. Амплитуда $P250$ при увеличении силы раздражения увеличилась у 10 человек на 27—39 % и у одного — практически не изменилась. Уменьшение амплитуды $N150$ (на 24 %) и $P250$ (на 15 %) при увеличении силы раздражения наблюдалось лишь у одного испытуемого из 12.

Вариабельность $N150$ и $P250$ значительно отличалась у разных испытуемых. Так, C_v для $N150$ составлял у разных испытуемых при меньшей силе раздражения 36—185, в среднем $106\% \pm 11\%$, а при большей силе раздражения 32—152, в среднем $83\% \pm 11\%$ (здесь и далее после средних значений указаны ошибки среднего). I_v для $N150$ составлял 31—155 (в среднем $97\% \pm 10\%$) при меньшей силе раздра-

жения и 31—129 (в среднем $78\% \pm 9\%$) при большей силе. C_v для $P250$ составлял у разных испытуемых 29—169 (в среднем $70\% \pm 12\%$) при меньшей силе раздражения и 23—178 (в среднем $57\% \pm 13\%$) при большей силе. I_v для $P250$ был 25—146 (в среднем $63\% \pm 10\%$) при меньшей силе раздражения и 19—140 (в среднем $48\% \pm 9\%$) при

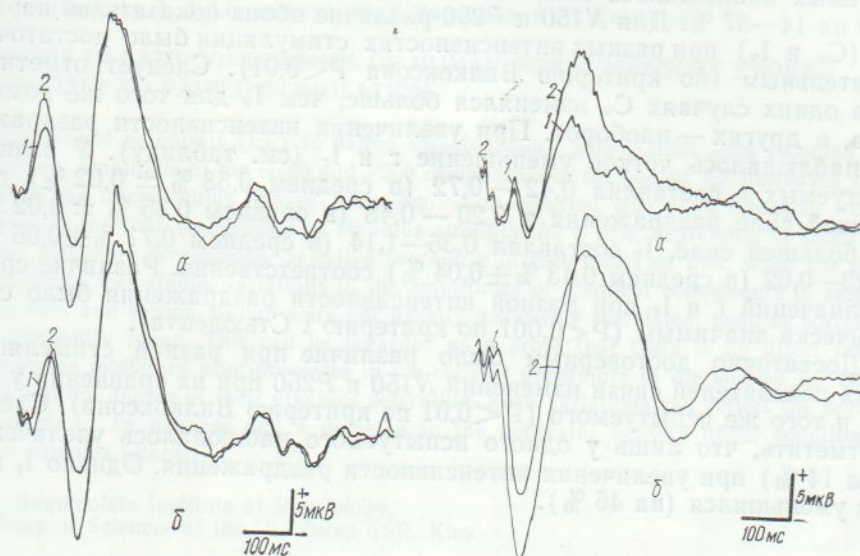


Рис. 1. Пример селективного усреднения ВП при наборе больше среднего (а) и меньше среднего (б) в условиях неболевой стимуляции у одного из испытуемых:

1 — усреднение ВП полного набора фрагментов ЭЭГ; 2 — ВП, полученное в результате селективного усреднения.

Рис. 2. Амплитуда и конфигурация вызванных потенциалов (ВП) у двух (а и б) испытуемых:

1 — ВП при электрокожной стимуляции неболевой интенсивности; 2 — ВП при стимуляции болевой интенсивности мизинца руки.

большей силе. Различие средних значений показателей вариальности при двух интенсивностях стимуляции для $N150$ и $P250$ не было статистически значимым ($P > 0,05$). В то же время результаты сравнения по-

Относительные изменения вариальности и взаимосвязи отрицательных (N) и положительных (P) компонентов вызванных потенциалов вертекса при увеличении интенсивности электрического раздражения кожи мизинца правой руки человека, %

Показатели вариальности и связи	Индивидуальное значение изменения показателя (х)												Среднее значение изменений показателя и ошибка среднего ($\bar{x} \pm m$)
	1-й пациент	2-й пациент	3-й пациент	4-й пациент	5-й пациент	6-й пациент	7-й пациент	8-й пациент	9-й пациент	10-й пациент	11-й пациент	12-й пациент	
Коэффициент вариации (C_v) для:													
$N150$	-23	-28	-15	-44	-26	-46	-20	-11	-4	-25	+15	-33	-22 ± 5
$P250$	-13	-19	-19	-17	-23	-30	-13	-28	-15	-34	+5	-35	-20 ± 3
Индекс вариальности (I_v) для:													
$N150$	-24	-13	-15	-38	-22	-45	-24	0	+7	-26	+10	-39	-19 ± 5
$P250$	-21	-15	-18	-30	-35	-24	-20	-24	-14	-49	-4	-37	-24 ± 3
Коэффициент парной корреляции (r) между:													
$N150$ и $P250$	-37	+19	-40	-41	-44	-43	-37	-62	-40	-30	-39	-60	-38 ± 6
Индекс связи (I_r) между:													
$N150$ и $P250$	-40	-46	-38	-36	-41	-26	-49	-55	-18	-32	-32	-65	-39 ± 4

казателей вариации (C_v и I_v) при двух интенсивностях раздражения у одного и того же испытуемого указывают на достаточно четкое снижение значений этих показателей при увеличении силы раздражения (таблица). Так, у 10 из 12 испытуемых наблюдалось снижение C_v для $N150$ на 11—46 %, а у 9 снижение I_v для $N150$ на 13—45 %. У 11 испытуемых наблюдалось снижение C_v для $P250$ на 13—35 % и I_v для $P250$ на 14—37 %. Для $N150$ и $P250$ различие обоих показателей вариации (C_v и I_v) при разных интенсивностях стимуляции было достаточно значительным (по критерию Вилкоксона $P < 0,01$). Следует отметить, что в одних случаях C_v изменялся больше, чем I_v для того же компонента, в других — наоборот. При увеличении интенсивности раздражения наблюдалось четкое уменьшение g и I_g (см. таблицу). У разных испытуемых g составлял 0,42—0,72 (в среднем $0,58 \% \pm 0,02 \%$) при меньшей силе раздражения и 0,20—0,48 (в среднем $0,35 \% \pm 0,02 \%$) при большей силе, I_g составлял 0,36—1,14 (в среднем $0,71 \% \pm 0,06 \%$) и 0,23—0,62 (в среднем $0,43 \% \pm 0,04 \%$) соответственно. Различие средних значений g и I_g при разной интенсивности раздражения было статистически значимым ($P < 0,001$ по критерию t Стьюдента).

Достаточно достоверным было различие при разной стимуляции обоих показателей связи изменений $N150$ и $P250$ при их сравнении у одного и того же испытуемого ($P < 0,01$ по критерию Вилкоксона). Следует отметить, что лишь у одного испытуемого наблюдалось увеличение g (на 14 %) при увеличении интенсивности раздражения. Однако I_g при этом уменьшился (на 46 %).

Обсуждение

Результаты нашего исследования согласуются с данными, полученными другими авторами, свидетельствующими об увеличении амплитуды поздних компонентов ВП при увеличении в широком диапазоне интенсивности раздражения [1, 7, 9]. Полученные результаты указывают также на достаточно закономерное уменьшение вариабельности обоих компонентов ВП при увеличении интенсивности раздражения. Такой эффект, очевидно, нельзя объяснить только усилением при болевой интенсивности десинхронизирующих влияний, уменьшающих амплитуду волн ЭЭГ. Так, оценка изменений вариабельности по индексу вариабельности, определяемому по усредненным ответам, и, следовательно, не зависящему от уровня фоновых колебаний, практически совпадает с оценкой по коэффициенту вариации, при расчете которого изменения ВП не дифференцированы от изменений фоновых колебаний ЭЭГ.

Таким образом, можно полагать, что при усилении раздражения от неболевой до болевой интенсивности происходит стабилизация уровня активации нейрофизиологических механизмов, лежащих в основе восприятия соматосенсорных стимулов.

Известно, что выраженность поздних компонентов ВП зависит от психологических свойств стимула. Так, увеличение амплитуды поздних компонентов ВП может наблюдаться при повышении внимания к стимулам [4]. В связи с этим увеличение амплитуды поздних компонентов ВП при увеличении интенсивности раздражения можно объяснить усилением внимания при ожидании стимулов болевой интенсивности. По-видимому, с повышением внимания к стимулам болевой интенсивности можно связывать и стабилизацию амплитуды ВП на эти раздражения, наблюдаемую в наших исследованиях.

Уже сам способ определения амплитуды компонентов $N150$ и $P250$ предполагает наличие некоторой положительной корреляции изменений этих компонентов. В то же время значительное различие между показателями связи компонентов при неболевой и болевой интенсивности раздражения можно объяснить различием вклада общего и автономных механизмов генеза компонентов $N150$ и $P250$, усилением роли отдельных генераторов при болевой интенсивности раздражения. Повышение влияния отдельных генераторов, по-видимому, может быть свя-

зано с усложнением процессов обработки соматосенсорной информации при болевой интенсивности. Это предположение соответствует представлению о неодинаковом отражении процессов обработки сенсорной информации в разных компонентах ВП [3].

V. V. Garkavenko, L. I. Limanskaya, M. T. Kapustina, A. B. Kalmutsky

CHANGES IN LATE COMPONENTS OF HUMAN SOMATOSENSORY EVOKED POTENTIALS TO PAIRED STIMULATION

Human evoked potentials (EP) to paired somatosensory pain stimuli were recorded from the vertex. Amplitude of the N150 and P250 components of the second EP decreased within 600-1000 ms interstimulus interval. The depression occurred was more intensive with an increase of the first (conditioning) stimulus strength. As a rule, depression of N150 component was more pronounced. Selective averaging of EPs indicated that, when the stimulus intensity was stable, variations in the amplitudes of identical components in response to the first and second stimuli were not usually negatively correlated; positive correlation was frequently found. This can be regarded as a proof that there is no direct relation between the inhibitory after-processes in the cellular generators of the studied EP components and the degree of their previous activation. Such variations can reflect the sequence of periods of an increase and a decrease in the generator activity under conditions of stable stimulus intensity.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенков Л. Р., Мельничук П. В. Центральные механизмы афферентации у человека.— М.: Медицина, 1985.— 272 с.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия.— М.: Высш. шк., 1980.— 293 с.
3. Рутман Э. М. Вызванные потенциалы в психологии и психофизиологии.— М.: Наука, 1979.— 213 с.
4. Шагас Ч. Вызванные потенциалы мозга в норме и патологии.— М.: Мир, 1975.— 314 с.
5. Bromm B. Evoked cerebral potential and pain // *Adv. Pain Res. and Ther.*— 1985.— 9.— P. 305—329.
6. Callaway E., Halliday R. A. Evoked potential variability: effects of age, amplitude and methods of measurement // *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.*— 1973.— 34, N 2.— P. 125—133.
7. Carmon A., Friedman Y., Coger R., Kenton B. Single trial analysis of evoked potentials to noxious thermal stimulation in man // *Pain.*— 1980.— 8, N 1.— P. 21—32.
8. Chapman C. R., Jacobson R. C. Assessment of analgesia state: can evoked potentials play a role? // *Pain measurement in man. Neurological correlates of pain* / Ed. B. Bromm.— Amsterdam: etc: Elsevier Science Publ. B. V., 1984.— P. 233—256.
9. Chen A. C. N., Chapman C. R., Harkins S. W. Brain evoked potentials are functional correlates of induced pain in man // *Pain.*— 1979.— 6, N 3.— P. 365—374.

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

Материал поступил
в редакцию 15.11.89.

УДК 612.181.6:611.114.1:612.115

В. П. Глухов

Роль адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса в регуляции функций системы свертывания крови

Исследования, проведенные в последние десятилетия, показали важную роль центральной и периферической нервной системы в регуляции свертывания крови [2, 3, 6]. Особый интерес представляет изучение роли

© В. П. ГЛУХОВ, 1990.

гипоталамуса в этой регуляции, и, в частности, его α - и β -адренореактивных структур. Сложная морфофункциональная организация и многочисленные афферентные и эфферентные связи адренореактивных структур гипоталамуса с периферическими адренореактивными структурами определяют широту и сложность его регуляторных влияний на вегетативные функции организма [1, 5, 8].

Поскольку этот вопрос до настоящего времени мало изучен, целью нашего исследования явилось изучение роли α - и β -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса в регуляции функций системы свертывания крови.

Методика

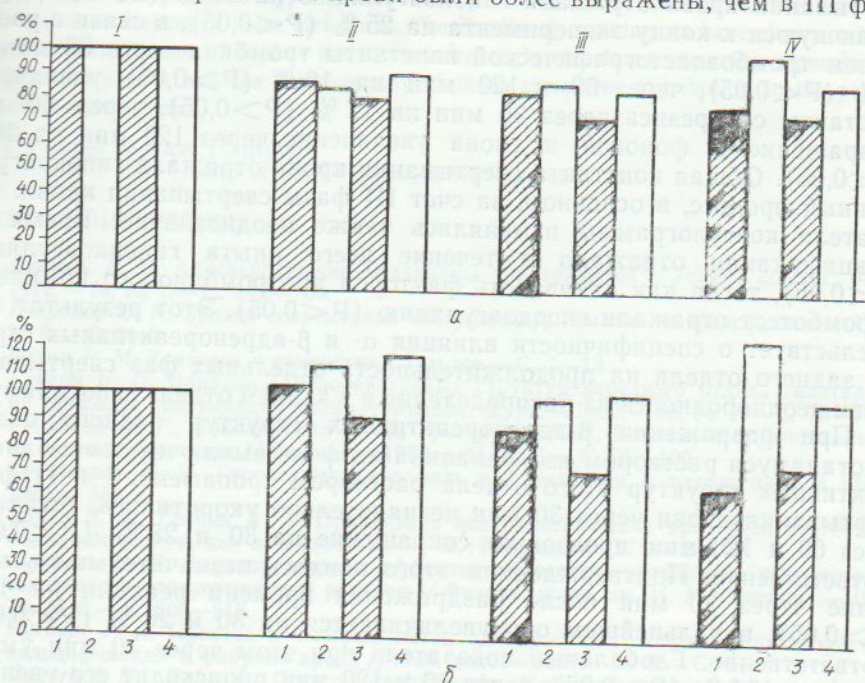
Исследования проводили в условиях хронического эксперимента на 14 кошках (самцы) массой 2,5—3,5 кг, которым в область заднего отдела гипоталамуса были вживлены хемотроды. Вживление производили под нембуталовым наркозом (40 мг/кг внутривенно) в стереотаксическом приборе по координатам топографического атласа [13]. Крепление хемотрода к черепу осуществляли с помощью норакрила. Спустя 5—6 сут, кошкам (при удовлетворительном их состоянии) через хемотрод вводили 2—4 нг норадреналина, содержащегося в 5 мкл раствора, изолированно и на фоне выключенных β -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса раствором обзидана. В последующих сериях эксперимента раздражали β -адренореактивные структуры заднего отдела гипоталамуса раствором изопrenalина (10 нг в том же объеме) изолированно и на фоне выключенных α -адренореактивных структур этого отдела раствором тропafenа. Забор крови производили по собственной методике из *v. uigularis ext.* до раздражения и через 30, 60 и 120 мин после раздражения α - и β -адренореактивных структур. Из показателей, характеризующих состояние системы свертывания крови, изучали параметры тромбоэластограммы на аппарате ГКГМ4-02 (СССР), а также время рекальцификации [9], активность факторов протромбинового комплекса [14], толерантность плазмы к гепарину [15], число тромбоцитов и тромботест [12].

По окончании опытов производили гистологический контроль локализации хемотрода. Результаты опытов подвергали статистической обработке по методу непараметрических критериев [7].

Результаты и их обсуждение

В первой серии опытов в область заднего отдела гипоталамуса вводили α -адреномиметик—норадреналин. Показано (рисунок, а), что раздражение α -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса приводит через 30 мин к укорочению I и II фаз свертывания крови на 12 % ($P < 0,05$). Через 60 и 120 мин происходит более значительное укорочение: на 14 % ($P < 0,05$) и на 20 % ($P < 0,001$) соответственно. Об этом свидетельствует уменьшение тромбоэластографической константы тромбопластина через 30 мин после раздражения на 12 % ($P < 0,05$), через 60 мин — на 14 % ($P < 0,05$) и через 120 мин — на 20 % ($P < 0,001$); уменьшение тромбоэластографической константы использования протромбина через 30 мин после раздражения на 5 % ($P > 0,05$), через 60 мин — на 20 % ($P < 0,05$) и через 120 мин — на 44 % ($P < 0,05$). Увеличивался в течение всего опыта глобальный показатель ($P < 0,05$). Также укорачивалась III фаза свертывания крови через 30 и 60 мин — на 15 % и 11 % соответственно ($P > 0,05$), через 120 мин продолжительность III фазы свертывания крови была равна фоновой, так как незначительно уменьшилась тромбографическая константа тромбина через 30 мин после раздражения, через 60 мин — была почти равна фоновой, через 120 мин — увеличилась на 26 % ($P < 0,05$), константа синерезиса уменьшилась через 30 и 60 мин после раздражения на 14 % и 11 % ($P > 0,05$) соответственно, и была равна фоновой через 120 мин. Общая константа свертывания крови отражала гиперкоагуляционный эффект. Биохимические показатели системы свертывания крови изменялись неоднозначно. Через 30 мин после раздражения время рекальцификации, активность факторов протромбинового комплекса и толерантность плаз-

мы к гепарину, в основном, не изменялись, тогда как концентрация фибриногена и число тромбоцитов отражали гиперкоагуляцию. В дальнейшем значения этих показателей увеличивались ($P < 0,05$). Данный гиперкоагуляционный эффект был более выражен при раздражении α -адренореактивных структур в заднем отделе гипоталамуса, чем при их раздражении в переднем отделе гипоталамуса [4], при этом изменения в I и II фазах свертывания крови были более выражены, чем в III фазе.



Относительная продолжительность (% фоновой) I и II фаз (затрихованные столбики) и III фазы (светлые столбики) свертывания крови до раздражения (I) и через 30 (II), 60 (III) и 120 (IV) мин после раздражения адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса кошки:

а — α -адренореактивные структуры (1, 2 — раздражение норадреналином; 3, 4 — то же на фоне обидана); б — β -адренореактивные структуры (1, 2 — раздражение изопреналином; 3, 4 — то же на фоне тропифена). Число животных в каждой серии опыта составляло 6.

С целью выявления большей дифференциации α -адренореактивных структур в заднем отделе гипоталамуса раздражались α -адренореактивные структуры заднего отдела гипоталамуса на фоне выключенных β -адренореактивных структур этого отдела. Полученные результаты (см. рисунок, а) показали, что гиперкоагуляционный эффект во время I и II фаз свертывания крови резко усиливался на протяжении всего эксперимента и достигал 20—27 % фоновой ($P < 0,001$). Это видно по результатам тромбоэластограммы: время реакции уменьшилось через 30 мин после раздражения на 20 %, через 60 мин — на 27 % и через 120 мин — на 24 % ($P < 0,001$) соответственно. Увеличился глобальный показатель через 30 мин — на 23 % ($P < 0,05$), через 60 мин — на 34 % ($P < 0,001$), через 120 мин — на 26 % ($P < 0,05$). Угловая константа увеличилась через 30 мин — на 19 % ($P < 0,05$), через 60 мин — на 26 % ($P < 0,01$) и через 120 мин — на 21 % ($P < 0,05$). Тогда как III фаза свертывания крови укорачивалась менее выражено, чем до выключения β -адренореактивных структур. Общая константа свертывания крови отражала выраженный гиперкоагуляционный эффект. Все это еще раз подтверждает высказанные нами ранее [4] предположения о наличии определенного взаимодействия этих структур.

В последующих двух сериях экспериментов (см. рисунок, б) при раздражении β -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса изопреналином продолжительность I—II фаз свертывания крови через 30 мин после раздражения была почти равной фоновой, через 60 мин — уменьшилась на 9 % ($P > 0,05$) и через 120 мин — на 34 %

($P < 0,005$) по принципу феномена отдачи, что подтверждают показатели тромбоэластограммы. Так, время реакции через 30 мин после раздражения было почти равно фоновому, незначительно уменьшилось через 60 мин и резко увеличилось к концу опыта на 34 % ($P < 0,005$). Глобальный показатель не изменился через 30 мин и увеличился через 120 мин на 30 % ($P < 0,005$). Через 30 мин после раздражения III фаза свертывания крови отражала гипокоагуляцию на 11 % ($P > 0,05$), усиливающуюся к концу эксперимента на 25 % ($P < 0,05$), в связи с увеличением тромбоэластографической константы тромбина через 30 мин на 40 % ($P < 0,05$), через 60 и 120 мин на 10 % ($P > 0,05$), увеличение константы синерезиса через 30 мин на 12 % ($P > 0,05$), через 60 мин возвращение к фоновой и снова увеличение через 120 мин на 26 % ($P < 0,05$). Общая константа свертывания крови отражала гипокоагуляционный процесс, в основном, за счет III фазы свертывания крови. Показатели коагулограммы изменялись также неоднозначно. Время рекальцификации отражало в течение всего опыта гиперкоагуляцию ($P < 0,05$), тогда как активность факторов протромбинового комплекса и тромботест отражали гипокоагуляцию ($P < 0,05$). Этот результат свидетельствует о специфичности влияния α - и β -адренореактивных структур заднего отдела на продолжительность отдельных фаз свертывания крови неоднородности их распределения и в заднем отделе гипоталамуса.

При раздражении β -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса раствором изопrenalина на фоне выключенных α -адренореактивных структур этого отдела раствором тропafenа, I и II фазы свертывания крови через 30 мин незначительно укоротились, тогда как через 60 и 120 мин произошло сокращение на 30 и 28 % ($P < 0,001$) соответственно. Подтверждением этого явилось незначительное уменьшение через 30 мин после раздражения времени реакции на 14 % ($P > 0,05$), в дальнейшем оно увеличивается на 30 и 26 % ($P < 0,001$) соответственно. Глобальный показатель при этом через 30 мин уменьшается на 14 % ($P > 0,05$), через 60 и 120 мин происходит его увеличение. Эти изменения согласуются с данными, представленными в других работах [11, 16], в частности, с тем, что пресинаптические β -адренорецепторы медируют механизмы положительной обратной связи. Тогда как III фаза свертывания крови отражала гипокоагуляцию и была удлинена через 30 мин на 17 % ($P < 0,05$). В дальнейшем эти изменения были выражены незначительно, что подтверждает увеличение тромбоэластографической константы тромбина через 30 мин на 18 % ($P < 0,05$), через 60 мин на 28 % ($P < 0,05$) и через 120 мин на 15 % ($P > 0,05$). Произошло резкое увеличение через 30 мин константы синерезиса на 17 % ($P < 0,05$). В дальнейшем эти изменения были менее выражены. Общая константа свертывания крови через 30 мин свидетельствовала о гипокоагуляции ($P < 0,05$) и через 60 и 120 мин отражала гиперкоагуляционный эффект ($P > 0,05$) и то за счет I и II фаз свертывания крови. Показатели коагулограммы отражали незначительный гиперкоагуляционный эффект, за исключением тромботеста, который отражал гипокоагуляцию ($P > 0,05$). Таким образом, необходимо еще раз отметить, что приведенные изменения отражают результаты неоднородности распределений α - и β -адренореактивных структур в заднем отделе гипоталамуса.

Выводы

1. В определенных взаимоотношениях находятся α - и β -адренореактивные структуры заднего отдела гипоталамуса и принимают участие в регуляции системы свертывания крови. При этом I и II фазы свертывания крови регулируют, в основном, α -адренореактивные структуры, III фазу — β -адренореактивные.

2. Распределение α - и β -адренореактивных структур в заднем отделе гипоталамуса неодинаково: β -структур меньше, чем α -адренореактивных структур.

V. P. Glukhov

THE ROLE OF THE POSTERIOR HYPOTHALAMIC ADRENERGIC STRUCTURES ADRENERGIC STRUCTURES IN REGULATION IN REGULATION OF THE BLOOD COAGULATIVE SYSTEM FUNCTIONS

Under conditions of chronic experiment, the stimulation of alpha- and beta-adrenergic structures of the posterior hypothalamus was performed. The same procedure was repeated after inactivation of these structures. The results of experiments have shown a specificity of the influence of alpha- and beta- adrenergic structures upon the separate blood coagulation phases and the heterogeneity of those structures distribution in the posterior hypothalamic region.

N. I. Pirogov Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Odessa

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алешин Б. В. Адренергические механизмы гипоталамуса // Успехи соврем. биол.— 1972.— 74, № 1.— С. 142—163.
2. Гаврилов О. К. Задачи современной коагулологии // Гематол. и трансфузиол.— 1989.— № 6.— С. 3—7.
3. Гланц Р. М. Темостаз и гомеостаз // Там же.— С. 7—13.
4. Глухов В. П. Влияние адренореактивных структур переднего отдела гипоталамуса на процессы свертывания крови // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 1.— С. 75—78.
5. Голубева М. Г., Калишевская Т. М., Григорьева Г. В. Влияние α -адреноблокаторов на систему гемостаза // Там же.— 1988.— 34, № 5.— С. 95—100.
6. Граценков Н. И. Гипоталамус, его роль в физиологии и патологии.— М.: Наука, 1964.— 388 с.
7. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях.— Л.: Медицина, 1973.— 142 с.
8. Манухин Б. Н. Адренорецепторы эффекторной клетки — локальные регуляторы интенсивности адренергической реакции // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова.— 1984.— 70, № 5.— С. 609—616.
9. Рутберг Р. А. Простой и быстрый метод одновременного определения скорости рекальцификации и фибрина крови // Лаб. дело.— 1961.— № 5.— С. 6—7.
10. Bogerhof H., Roka L. Gerinnungsphysiologische Untersuchungen bei Hemorrhagischen Diathesen // Z. Vitamin Hormon n. Fermentforsch.— 1954.— 6, N 1.— С. 25—39.
11. Celluch S., Dubocovich M. L., Langer S. Z. Stimulation of presynaptic β -adrenoreceptors enhances ^3H -noradrenaline release during nerve stimulation in the perfused cat spleen // Brit. J. Pharmacol. In press.— 1978.
12. Feunte Hita M. F. Etude b; un thrombo-test pour Le diagnostic de S'hypercoagulabilite Sangine et son evolution Sons S'influence des anticoagulants // Lyon med.— 1958.— N 20.— P. 773—784.
13. Jasper H., Aimone Marsen A. Stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat.— Ottawa: Natl. Res. Council of Canada, 1954.— 105 p.
14. Quick A. On constitution of prothrombin // Amer. J. Physiol.— 1943.— 140, N 2.— P. 212—220.
15. Sigg B. Der Murroheparintes // Klin. Wochenschr.— 1952.— N 9/10.— S. 205—206.
16. Yamaguchi N., De Champlain J., Nadcu R. A. Regulation of norepinephrine release from cardiac sympathetic fibres in the dog by presynaptic alpha and beta receptors // Circulat. Res.— 1977.— 41.— P. 108—117.

Одесс. мед. ин-т им. Н. И. Пирогова
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 20.11.89

УДК 616.8—009.24—02:02:615:547.831—092.9—07:616.831—073.97

В. Л. Козловский, И. В. Прахье

Конвульсиогенное действие хинолиновой кислоты на мозговые структуры

Участие метаболитов триптофана, в частности, кинуренинов, в патогенезе эпилепсии и судорожных состояний интенсивно исследуется многими научными коллективами [7, 9, 10]. Наибольший интерес в этом отношении представляет хинолиновая кислота (ХК), которая при введении в боковые желудочки мозга вызывает развитие повторяющихся

© В. Л. КОЗЛОВСКИЙ, И. В. ПРАХЬЕ, 1990.

клонико-тонических судорог у мышей и крыс [7]. Вероятно, этот эффект реализуется через *n*-метил-*d*-аспартат (НМДА) — подтип глутаматергических рецепторов [12], локализующихся на мембранах нейронов таких «конвульсиогенных» структур как хвостатое ядро, гиппокамп (дорзальная его часть), миндалевидный комплекс. Несмотря на интенсивно ведущиеся исследования судорожного действия ХК, участие и вклад каждой из этих структур в развитие судорог не исследованы.

Непосредственное введение ХК в хвостатое ядро, дорзальную часть гиппокампа и миндалевидный комплекс [9, 10, 11] не дает представления о роли этих структур в патогенезе ХК-судорог, так как выявленная бо́льшая или меньшая чувствительность указанных структур к возбуждающему действию ХК не отражает их участия в сложном и многоступенчатом механизме формирования генерализованных судорог.

Цель нашей работы состоит в выяснении участия хвостатого ядра, дорзальной части гиппокампа и миндалевидного комплекса в развитии ХК-судорог при внутрижелудочковом введении конвульсанта.

Методика

В работе использованы 104 белые беспородные крысы (самцы) массой 150—200 г. Всем животным под нембуталовым наркозом (50 мг/кг) по координатам стереотаксического атласа [8] в левый боковой желудочек головного мозга вживляли полиэтиленовую канюлю.

Электролитическое разрушение структур в трех сериях опытов проводили анодным током силой 1—2 мА (диаметр активного электрода 0,6 мм). Катодом служил массивный ректальный электрод. В первой группе животных разрушению подвергали области растральных отделов полосатого тела, во второй и третьей, соответственно, дорзальной части гиппокампа и бо́льшую часть миндалевидного комплекса. Контрольным животным активный электрод погружали в структуры без пропускания электрического тока. В опыт крыс брали через 5—7 сут после операции.

После разрушения структур животным вводили ХК (фирма «Sigma», США) по 30 и 45 мкг в 5 мкл раствора в течение 30—60 с. Сразу после введения препарата регистрировали латентный период наступления судорог, число животных, у которых возникли судороги, и число генерализованных судорожных припадков за 60 мин наблюдения.

Кроме того, 17 животным слева, в дорзальную часть гиппокампа, растральный отдел полосатого тела, базолатеральную часть миндалевидного комплекса и кору бо́льших полушарий вживляли отводящие биполярные электроды, которые представляли собой две нихромовые проволоки, изолированные по всей длине, кроме кончика, фторопластовой суспензией (Ф-40 Д) и срезанные под углом 45°.

В экспериментах, предусматривающих регистрацию ЭЭГ, ХК вводили по 1, 5, и 10 мкг в том же объеме раствора, контрольным животным — эквивалентный объем бидистиллированной воды, а не физиологического раствора. При этом мы исходили из того, что физиологический раствор способен изменять электрическую активность нейронов [3, 4]. После введения препарата движения животного ограничивали и его помещали в экранированную камеру на все время эксперимента. ЭЭГ регистрировали периодически в течение 60 мин.

Локализацию электродов и зону электролитического разрушения мозга исследовали на фронтальных срезах. Последние готовили на замораживающем микротоме и окрашивали гематоксилин-эозином (рис. 1).

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием точного метода Фишера.

Результаты и их обсуждение

Введение ХК в боковой желудочек мозга сопровождалось снижением амплитуды исходной биоэлектрической активности. Аналогичную реакцию наблюдали и после введения растворителя, что позволило говорить о неспецифическом характере этих изменений на зарегистрированной ЭЭГ. Спустя 30—60 с после инъекции ХК, в отведениях от полосатого тела и дорзального гиппокампа регистрировали появление высокоампли-

тудных эпилептиформных разрядов (пики, множественные пики, комплексы так называемой пик-волновой активности и т. д.). Эпилептиформная активность в исследуемых структурах развивалась не одновременно. Прежде всего появление эпилептиформных разрядов отмечали в отведениях от полосатого тела, а затем в отведениях от дор-

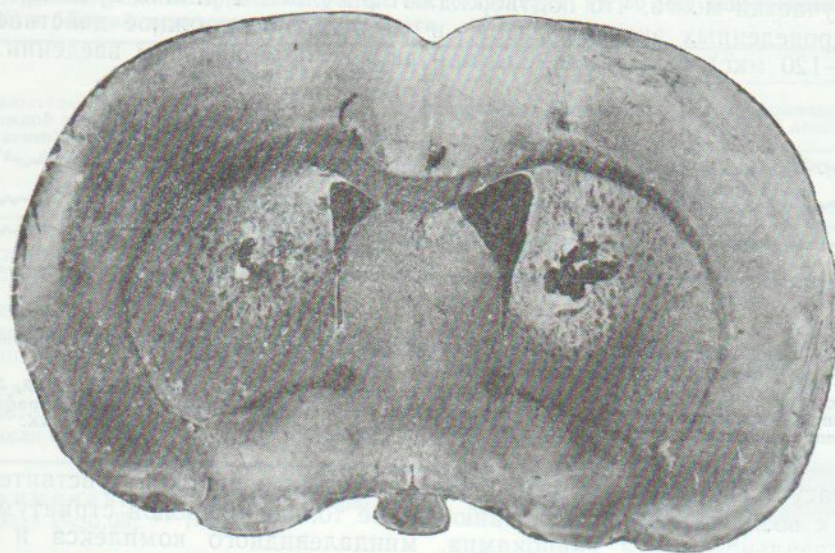


Рис. 1. Фронтальный срез головного мозга крысы (окраска гематоксилин-эозином). Отчетливо определяется зона двустороннего электролитического разрушения в ростральных отделах полосатого тела.

зальной части гиппокампа и миндалевидного комплекса, что особенно хорошо было выражено при минимальном введении (1 и 5 мкг) ХК (рис. 2). Зарегистрировать эти различия при использовании более высокой концентрации ХК не удалось: патологические разряды появлялись в исследуемых структурах одновременно и быстро иррадиировали в кору больших полушарий мозга. Затухание вызванной эпилептиформной активности наблюдали в зависимости от концентрации введенной ХК через 15—40 мин после введения конвульсанта.

Эти результаты свидетельствуют о том, что внутрижелудочковое введение ХК, вызывая развитие ЭЭГ-коррелятов судорожной реакции, оказывает конвульсиогенное влияние прежде всего на стриатум, а затем на дорзальную часть гиппокампа и ядра миндалевидного комплекса. Повышенная реакция стриатума на ХК может быть связана с высокой концентрацией ХК в месте ее введения (канюля в боковом желудочке располагается на уровне стриатума) и с высокой чувствительностью этой структуры к ХК.

В следующих трех сериях опытов введение ХК осуществляли животным после предварительного электролитического разрушения одной из упомянутых структур: стриатума, дорзального гиппокампа и большей части миндалевидного комплекса. Результаты этих экспериментов представлены в таблице. Разрушение полосатого тела препятствовало развитию ХК-судорог у крыс. У двух из 16 животных появление судорог наблюдали через 22 мин после введения ХК, а в группе ложнооперированных крыс через 1—2 мин. После увеличения концентрации ХК до 45 мкг в 5 мкл раствора не наблюдали существенных различий между показателями в группах контрольных и стриатэктомированных животных. Разрушение стриатума существенно не сказалось на числе судорожных припадков у этих животных.

В литературе высказано предположение о возможной триггерной роли неостриатума в механизме развития генерализованных судорог [1, 2]. Наши результаты подтверждают это, однако, свидетельствуют также о том, что влияние стриатума на уже сформированную судорож-

ную реакцию выражено незначительно, так как существенных различий числа судорожных припадков между контрольными и стриатэктомизированными животными не обнаружено. При увеличении концентрации ХК до 45 мкг в 5 мкл раствора судороги развиваются у стриатэктомизированных животных, вероятно, за счет воздействия ХК на неповрежденные участки мозга, что подтверждают результаты наших предварительных проведенных экспериментов, в которых судорожное действие ХК (60—120 мкг) было выявлено при внутрицистернальном введении. Это

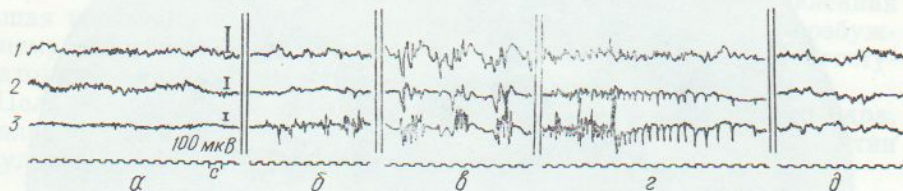


Рис. 2. Изменение биоэлектрической активности мозга крысы после внутрижелудочкового введения 5 мкг хинолиновой кислоты (ХК):

α — фоновая ЭЭГ (на этой и следующих позициях рисунка 1 — кора больших полушарий, 2 — гиппокамп, 3 — полосатое тело); β — ЭЭГ через 1 мин; γ — ЭЭГ через 2 мин; δ — электрографический коррелят судорожного припадка через 22 мин; ε — ЭЭГ через 40 мин после введения ХК.

согласуется с данными, свидетельствующими о высокой чувствительности к возбуждающему действию ХК не только нейронов стриатума, но и дорзальной части гиппокампа, миндалевидного комплекса и коры больших полушарий мозга [9]. Поскольку ЭЭГ-проявления судорожной активности были зарегистрированы в отведениях от стриатума раньше, чем от других структур, а разрушение его в наших экспериментах существенно сказалось на числе животных, у которых развились судороги, а не на числе возникших припадков, можно допустить, что стриатум играет роль пусковой структуры в развитии хинолиновых судорог у крыс.

Если разрушение стриатума сопровождалось уменьшением числа животных, реагировавших на введение ХК судорогами, то разрушение гиппокампа приводило к увеличению числа судорожных припадков (см. таблицу). Эксперименты с регистрацией ЭЭГ свидетельствуют о вторичном вовлечении дорзальной части гиппокампа в судорожную реакцию, а опыты с электролитическим разрушением указывают на тормозящее влияние этой структуры в механизмах развития ХК-судорог. Тормозящее влияние гиппокампа и его вторичное вовлечение в судороги не согласуются с общезвестным мнением о ведущей, триггерной роли этой структуры в генерализации судорог [5, 6]. В некотором противоречии с нашими результатами находятся данные, свидетельствующие о том, что разрушение дорзальной части гиппокампа снижает судорожную реакцию крыс на коразол [6].

Необходимо заметить, что большинство исследований по изучению роли гиппокампа в патогенезе судорожных состояний проведено в условиях системного введения конвульсантов или непосредственного раздражения этой структуры. Наши эксперименты выполнены в условиях внутрижелудочкового введения ХК, что, возможно, и определяет вторичные тормозящие свойства гиппокампа. Внутрижелудочковое введение конвульсантов вызывает иную, чем при других способах введения, последовательность вовлечения структур в ответную реакцию, а это, вероятно, может сопровождаться изменениями реактивности и функциональной роли структуры, вовлекаемой в ответную судорожную реакцию. Большое число функциональных связей гиппокампа с многими структурами мозга способствует, в условиях ограниченных определенными нейробиохимическими или нейрофизиологическими механизмами развития судорог, осуществлению тормозящего контроля гиппокампа над другими отделами ЦНС, служащими в данном случае генераторами возбуждения (например, стриатум).

Разрушение миндалевидного комплекса в наших экспериментах не оказало существенного влияния на развитие ХК-судорог, что могло быть обусловлено удаленностью этой структуры от места инъекции и физиологическими особенностями реакции его нейронов на ХК.

Влияние электролитического разрушения исследуемых мозговых структур на показатели судорожной реакции организма у крыс после введения им 30 мкг хинолиновой кислоты (ХК) в боковой желудочек головного мозга

Показатель судорожной реакции организма животного	Погружение активного электрода					
	в стриатум		в гиппокамп (дорзальную его часть)		в миндалевидный комплекс	
	без пропуска-ния тока (23)	с пропуска-нием тока (16)	без пропуска-ния тока (9)	с пропуска-нием тока (9)	без пропуска-ния тока (9)	с пропуска-нием тока (13)
Латентный пе-риод реакции, с	53,8±13,1	—	48,3±10,2	38,0±8,4	60,2±12,3	36,4±14,8
Среднее число судорожных припадков	2,8±0,5	2,5±0,4	4,2±0,3	6,7±0,4*	5,6±0,8	5,6±0,6
Число крыс, у которых воз-никли судороги	13	2**	9	9	7	7

Примечания: в скобках указано общее число крыс в исследуемой группе животных; * $P < 0,05$; ** $P < 0,025$.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о ведущей триггерной роли стриатума и тормозящей — гиппокампа (его дорзальной части) в развитии судорог, вызванных внутрижелудочковым введением ХК.

Выводы

1. Эффект внутрижелудочкового введения хинолиновой кислоты проявляется на ЭЭГ крыс в виде электрографических коррелятов судорожной реакции, регистрируемых сначала в отведениях от стриатума, а затем от гиппокампа и коры больших полушарий мозга.

2. Разрушение стриатума уменьшает число крыс, у которых судороги возникают, но не влияют на число генерализованных судорожных припадков.

3. Разрушение гиппокампа (дорзальной его части) увеличивает число генерализованных судорожных припадков у крыс.

4. Разрушение миндалевидного комплекса существенно не влияет на возникновение и развитие хинолиновых судорог.

V. L. Kozlovsky, I. B. Prakhve

CONVULSIOGENIC ACTION OF QUINOLINIC ACID ON THE BRAIN STRUCTURES

Data on the electrolytic lesions of the brain structures (striatum, dorsal hippocampus, amygdaloid complex) in rats suggest a trigger role of striatum in the formation of quinolinic acid (30 µg, intracerebroventricularly) — induced seizures. EEG recording also supports this conclusion.

V. M. Bekhterev Research Psychoneurological Institute,
Ministry of the Public Health of the RSFSR, Leningrad

1. Арушанян Э. Б. О двойственной роли хвостатого ядра в регуляции судорог // Невропатология и психиатрия. — 1975. — XXV, № 3. — С. 444—450.
2. Арушанян Э. Б., Оттелин В. А. Хвостатое ядро // Л.: Наука. — 1976. — 220 с.

3. Бородин Ю. С., Лосев Н. А., Крауз В. А. Зависимость действия метамизила и глицина на гиппокамп и ретикулярную формацию среднего мозга от проницаемости гистогематических барьеров этих структур // Фармакология и токсикология.— 1970.— 33, № 3.— С. 259—263.
4. Гусель В. А., Рогледер А. М. О локализации в гиппокампе М- и Н-холинореактивных структур // Там же.— 1972.— 35, № 5.— С. 552—555.
5. Савченко Ю. Н. О роли гиппокампа в генезе эпилепсии // Клин. нейрофизиология.— Л.: Наука.— 1972.— С. 147—154.
6. Синицкий В. Н. Судорожная готовность и механизмы эпилептических припадков // Киев: Наук. думка.— 1976.— 180 с.
7. Lapin I. P., Prakhie I. B., Kiseleva I. P. Excitatory effects of kynurenine and its metabolites, amino acid and convulsants administered into brain ventricles: differences between rats and mice // J. Neural Transmiss.— 1982.— 54.— P. 229—238.
8. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates.— Sydney: Acad. press, 1982.— 12 p.
9. Perkins M. N., Stone T. W. Quinolinic acid: regional variations in neural sensitivity // Brain Res.— 1983.— 259, N 1.— P. 172—176.
10. Schwarcz R., Brush G. S., Foster A. C., French E. D. Seizures activity and lesions after intrahippocampal quinolinic acid injections // Exp. neurol.— 1984.— 84, N 1.— P. 1—17.
11. Schwarcz R., Kohler C. Differential vulnerability of central neurons of the rat to quinolinic acid // Neurosci Lett.— 1983.— 38, N 1.— P. 85—90.
12. Stone T. W., Burton N. R. NMDA receptors and ligand in the vertebrate CNS // Progress in Neurobiology.— 1988.— 30.— P. 333—368.

Ленинград. науч.-исслед. ин-т им. В. М. Бехтерева
 Главн. управления науч.-исслед. ин-тов
 и координации науч. исследований
 М-ва здравоохранения РСФСР

Материал поступил
 в редакцию 10.02.90

УДК 591.185.0:599.423

Е. В. Мовчан

Влияние разрушения слуховых центров мозга на дальность эхолокационного обнаружения целей летучими мышами вида *Rhinolophus ferrugineus* (большой подковонос)

При изучении нервных механизмов регуляции эхолокационной системы подковоносовых летучих мышей, представляющих интерес в связи с развитием у них уникальной доплеровской эхолокационной системы [2, 12], основное внимание исследователи уделяли выявлению функциональной значимости заднего двуххолмия и слуховой области неокортекса. К настоящему времени оценена мера участия этих образований в работе звукоизлучающей системы, а также их роль в обнаружении движущихся объектов с помощью эхолокации и регуляции процесса компенсации доплеровских частотных сдвигов в эхосигналах [1, 3—6].

В плане дальнейшего изучения нервных механизмов регуляции доплеровской эхолокационной системы у подковоносов мы исследовали влияние разрушения различных отделов слуховой системы (слуховой области коры, внутренних коленчатых тел, задних бугров четверохолмия) на параметры зондирующих локационных сигналов у большого подковоноса и на предельную дальность эхолокационного обнаружения неподвижных объектов этим видом летучих мышей.

Методика

Предельную дальность эхолокационного обнаружения неподвижных объектов оценивали при использовании широко распространенной методики избегания летучими мышами проволочной преграды. Эксперименты проводили в звукозаглушенной антиревербера-

© Е. В. МОВЧАН, 1990.

ционной камере размером 2×3×2 м. По всей длине камера была разделена акустически прозрачной перегородкой на два коридора, один из которых в случайном порядке перегородивался барьером из вертикально натянутых медных проволок (шаг 45 мм, диаметр 0,9 мм). Перед животным ставили задачу с места старта обнаружить преграду, перелететь через свободный от проволок коридор и сесть на кормушку в противоположном конце камеры. В ходе опытов проводили регистрацию локационных сигналов животных. Для этого использовали установленный в конце разграничительной сетки конденсаторный микрофон, связанный с биоакустическим комплексом [7], позволяющим производить оценку частоты заполнения сигналов с точностью до 0,06 %. С целью получения амплитудно-частотных спектров и динамических спектрограмм локационных сигналов применяли динамический спектрограф, имеющий 48 фильтров в полосе 0,06—10 кГц. Анализ ультразвуковых локационных сигналов производили при восьмикратном (в некоторых случаях шестнадцатикратном) замедлении скорости воспроизведения их магнитофонных записей. Оценка изменения интенсивности (ΔL) отраженного сигнала при различных расстояниях до препятствия проводили по формуле

$$\Delta L = L_2 - L_1 = 20 \lg \left(\frac{r_1}{r_2} \right)^3 - a(r_1 - r_2),$$

где L_2 и L_1 — интенсивность на расстоянии соответственно r_2 , r_1 ; a — коэффициент поглощения звука (дБ) на частоте излучения 81 кГц.

Разрушение заднего двухолмия и внутренних коленчатых тел (ВКТ) осуществляли электролитически, а слуховой области коры — методом термокоагуляции. Операции проводили на наркотизированных гексеналом (0,08 мг/г, внутривенно) летучих мышах. Мозг оперированных животных по окончании опыта гистологически обрабатывали по методике Ниссля.

Результаты

Определение предельной дальности обнаружения летучими мышами проволок в норме проводили на 26 предварительно энуклеированных больших подковоносах. Все подопытные животные надежно (доля правильных реакций составляет 78—95 %) обнаруживали преграду, расстояние до которой не превышало 130 см. Установка проволочной преграды на расстоянии 140 см от стартовой площадки вызывала у 18 животных резкое падение относительного числа правильных реакций в среднем (в зависимости от животного) до 56,2—73,7 %. Для этой группы летучих мышей расстояние в 130 см рассматривалось нами как предельная дальность обнаружения преграды. Для остальных больших подковоносов на этом расстоянии относительное число избеганий преграды в среднем составляло 75,9—88,1 %. Лишь при дальности в 150 см доля правильных реакций уменьшалась и была ниже порогового вероятностного значения — 75 %. В среднем она составляла 51,7—65 %. Дополнительные тренировки летучих мышей по их полету на предельное расстояние до преграды (в среднем по 85 сочетаний для каждого животного) не привели к заметному увеличению числа правильных реакций во время тренировочных пролетов. Результаты проведенных экспериментов дают основание считать, что у больших подковоносов в норме предельная дальность обнаружения преграды, состоящей из проволок диаметром 0,9 мм, составляет 130—140 см.

Разрушение слуховой области неокортекса заметно не повлияло на способность летучих мышей к маневренному полету, однако вызвало нарушения в поведении животных при подлете к финишной площадке. Так, в начале первого опыта (10—15 полетов) подковоносы не садились на тонкую (диаметр 2 мм) проволочную финишную площадку, а долетев до нее, круто поворачивали и цеплялись за стену камеры. В дальнейшем на протяжении 10—11 опытов животные садились на гладкий стержень-держатель финишной площадки, диаметр которого составлял 6 мм, хотя посадка на него требовала большой маневренности. Следует отметить, что интактные животные не садились на держатель площадки ни разу. Посадка оперированных летучих мышей непосредственно на

финишную площадку была зарегистрирована лишь к 11-, 12-м послеоперационным суткам.

Удаление слуховой области коры у этого вида летучих мышей привело в первые послеоперационные сутки к резкому уменьшению (до значения, в среднем составляющего 41,4 % нормы) относительной предельной дальности обнаружения проволоочной преграды. В последующие

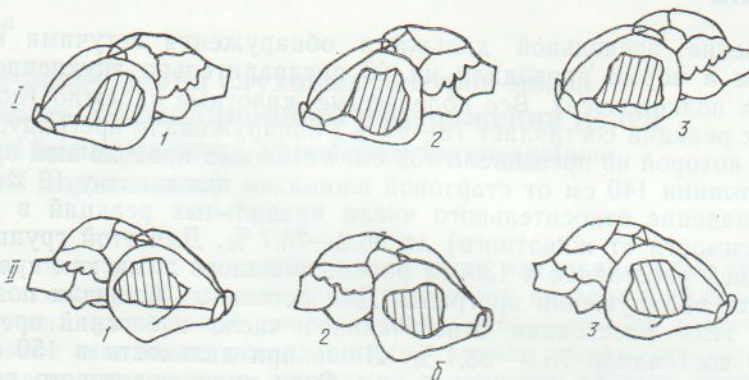
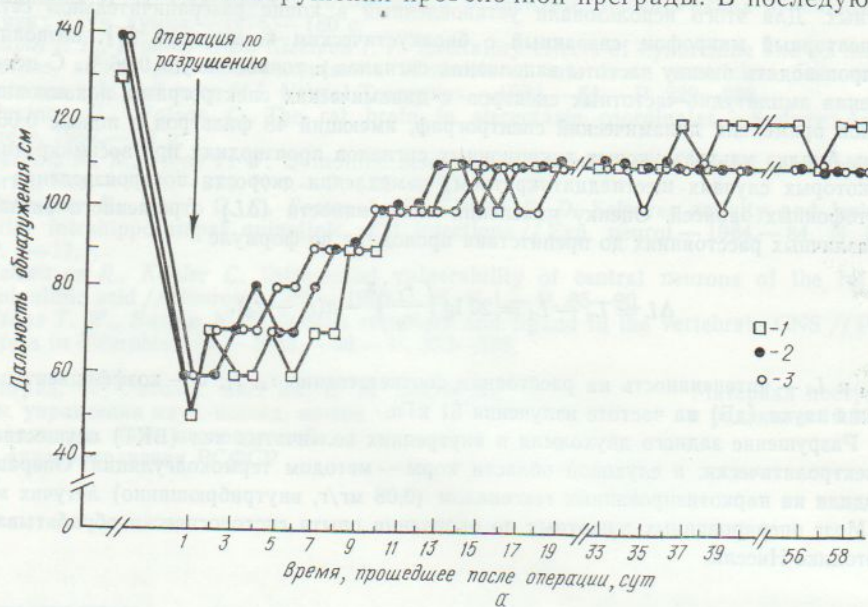


Рис. 1. Предельная дальность обнаружения преграды (а) и поврежденные участки (заштрихованы) височной части (б) левого (I) и правого (II) полушарий головного мозга после термокоагуляционного разрушения слуховой области коры у большого подковоноса:

1—3 — отдельные особи.

послеоперационные сутки наблюдалось увеличение дальности обнаружения преграды (рис. 1). При этом относительное число правильных реакций на проволоочную преграду, находящуюся в 110 см от животного, варьировало в пределах 73—86 %. Лишь к 36-м послеоперационным суткам предельная дальность обнаружения у одной летучей мыши могла повышаться. Минимальное расхождение с нормой у этой летучей мыши составляло 10 см. Полученные факты могут указывать, во-первых, на понижение чувствительности эхолокационной системы и, во-вторых, на изменения способности оперированных летучих мышей к локализации цели. Однако последующие эксперименты показали, что обнаруженный эффект не связан с ухудшением этой способности у животных. Так, при замене проволок диаметром 0,9 мм на проволоки диаметром 3 мм у оперированных животных резко возрастала дальность обнаружения препятствия.

Морфологический анализ мозга данной группы летучих мышей показал, что слуховая область коры удалена полностью билатерально. В структуре клеток внутреннего коленчатого тела обнаружены резкие изменения. Большая часть нейронов погибла. Нормальных клеток крайне мало и располагаются они в основном в дорсальном, медиальном и каудальном отделах внутреннего коленчатого тела.

Таким образом, проведенные эксперименты показывают, что разрушение слуховой области коры в первые послеоперационные сутки приводит к резкому (до 41,4 % нормы) уменьшению предельной дальности эхолокационного обнаружения летучими мышами неподвижных предметов. Как показали расчеты, интенсивность отраженного сигнала при этом возрастает на 20 дБ, т. е. чувствительность эхолокационной системы ухудшается на 20 дБ. В последующие сутки предельная дальность обнаружения увеличивается, однако полного восстановления дооперационной способности не происходит. Уменьшение чувствительности эхолокационной системы по сравнению с нормой составляет 5 дБ.

Билатеральное выключение ВКТ летучие мыши переносили тяжело и в большинстве случаев умирали, еще не выходя из наркоза. Отдельные животные все же жили некоторое время после операции, но были очень вялыми, практически не ели и погибали на 1—2-сутки. Из двенадцати оперированных животных выжило два больших подковоноса. В первые два дня после операции большие подковоносы не летали, были крайне вялые, однако, у них отчетливо проявлялся двигательный компонент ориентировочной реакции на цоканье, стук пинцета и шорохи. Начиная с третьих послеоперационных суток, летучие мыши могли летать, при этом заметных изменений в полете не наблюдалось. У подковоносов с разрушенными ВКТ, так же как и у животных с выключенной слуховой областью коры, в первые 3—4 сут не было попыток сесть на финишную площадку. В этот период животные цеплялись за обшивку камеры. Лишь на 5-е сутки большие подковоносы стали совершать посадку на финишную площадку, при этом весь их маневр посадки сильно отличался от маневра интактных животных, для которых при полете к площадке свойственен вираж в воздухе с последующим захватом края площадки задними конечностями. Оперированные животные падали на площадку животом, а потом уже соскальзывая вниз цеплялись за нее. Полет и финиширование животных нормализовались только спустя 7—8 сут после операции.

Эксперименты по обнаружению летучими мышами с выключенными ВКТ проволоочной преграды проводили, начиная с третьих послеоперационных суток. Оказалось, что в первые сутки опыта предельная дальность обнаружения преграды у одной мыши составляла 70 см, а у другой — всего 50 см. Однако уже на следующий день большие подковоносы успешно обнаруживали преграду с расстояния 100 см. При этом относительное число правильных реакций составляло 81—89 %. В отличие от экспериментов с удалением слуховой области коры, выключение ВКТ не привело у животных опытной группы к необратимому уменьшению предельной дальности обнаружения проволоочной преграды. У одного подковоноса значение этой величины совпало с ее значением в контроле к 16-м, а у другого — к 18-м послеоперационным суткам.

Морфологический анализ мозга летучих мышей показал, что в результате операции у одного подковоноса слева полностью разрушен дорсомедиальный отдел ВКТ на всем ростокаудальном протяжении этого образования. Вентральная часть ВКТ осталась практически неповрежденной. Справа поврежден лишь дорсальный отдел ВКТ. У другого подковоноса слева ВКТ повреждено практически полностью. В нем сохранились лишь небольшие участки рострального отдела. Справа разрушению подверглись дорсальный отдел ВКТ и незначительно ядро заднего таламуса.

Эксперименты по влиянию билатерального разрушения задних холмов на эхолокационное обнаружение большими подковоносами неподвижных предметов проводили, начиная со 2-х и 3-х суток после опера-

ции. В первые сутки опыта животные могли совершать маневренный полет в условиях экспериментальной камеры, однако летали крайне неохотно, полет их был замедленным, а перед совершением каждого пролета подковоносы подолгу излучали эхолокационные импульсы, исследуя окружающее их пространство. Двухстороннее разрушение заднего двуххолмия заметно повлияло и на траекторию полета животных: на протяжении первых 9—10 сут после операции подковоносы во время экспериментов не делали попыток сесть на финишную площадку, а,

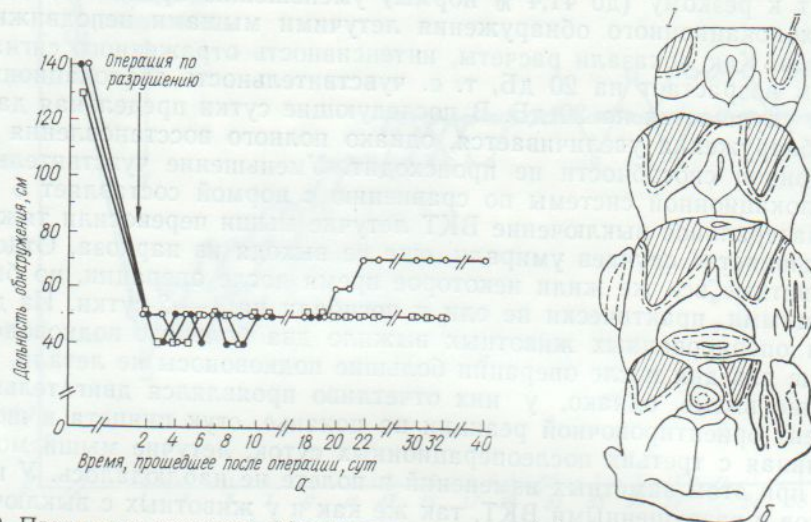


Рис. 2. Предельная дальность обнаружения преграды (а) у трех отдельных особей (см. обозначения на рис. 1) большого подковоноса после электролитического разрушения у них заднего бугра двуххолмия и участки (заштрихованы), характеризующие меру этого разрушения только у третьего животного: I, II — левая и правая соответственно стороны ствола головного мозга.

пролетев мимо проволочной преграды, сразу садились на ближайшую стенку камеры. Предельная дальность обнаружения преграды в первый день опыта составляла 40—50 см. У двух животных она не менялась на протяжении всего периода экспериментов — 32 сут (рис. 2), у третьего животного предельная дальность обнаружения преграды постепенно увеличивалась. При этом к 20-м суткам после операции она составляла 60 см, а к 22-м — 70 см. В дальнейшем на протяжении всего периода наблюдений (40 сут) отмечались колебания значений предельной дальности обнаружения преграды в пределах 60—70 см. Как и в случае с разрушением слуховой области коры, в этой серии экспериментов ставилась задача обнаруживать преграду, состоящую из проволок большего диаметра (3 мм). Оказалось, что оперированные животные обнаруживают такую преграду с большего расстояния. Судя по результатам морфологического анализа мозга у всех трех использованных в эксперименте летучих мышей, заднее двуххолмие разрушено практически полностью, лишь у третьего подковоноса уцелели небольшие участки латерального отдела заднего двуххолмия. Таким образом, полное удаление заднего двуххолмия приводит к необратимому уменьшению предельной дальности обнаружения неподвижных предметов до значений, составляющих 38,5 % контрольных, что соответствует увеличению интенсивности эхосигналов, а следовательно, и ухудшению чувствительности эхолокационной системы оперированных животных на 23 дБ.

Анализ частотно-временных параметров локационных сигналов оперированных и интактных животных показал, что разрушение слуховой области коры, так же как и частичное разрушение ВКТ, не приводит к достоверным изменениям частотных и временных характеристик сигналов. Так, летучая мышь, у которой наиболее полно разрушена слуховая область коры (см. рис. 1, а, 2), излучала типичные для своего вида сигналы на старте: длительностью $55,9 \text{ мс} \pm 1,7 \text{ мс}$ ($56,8 \text{ мс} \pm$

$\pm 2,8$ мс), частотой следования $4,5$ имп/с $\pm 0,4$ имп/с ($4,6$ имп/с $\pm 0,2$ имп/с) и частотой заполнения $81,21$ кГц $\pm 0,03$ кГц ($81,17$ кГц $\pm 0,04$ кГц); при подлете к финишной площадке длительность импульсов сокращалась до $32,3 \pm 10,3$ мс ($33,8$ мс $\pm 12,8$ мс), а частота следования увеличивалась до $10,8$ имп/с $\pm 0,3$ имп/с ($11,1$ имп/с $\pm 0,2$ имп/с). В скобках приведены параметры сигналов у этого животного до операции; $\pm$ — здесь и далее — δ . Полное разрушение заднего двуххолмия приводит к резким нарушениям частотных характеристик сигналов. В частности, обнаружено, что сидящие неподвижно оперированные животные не могли на протяжении всего срока наблюдения после операции (т. е. в течение 3 мес) удерживать частоту заполнения ПЧ-части¹ локационных сигналов с той же точностью, что и неоперированные животные. После такой операции значения частоты заполнения ПЧ-части локационных сигналов летучих мышей колебались в среднем в пределах ± 280 Гц, в то время как в норме эти колебания не превышали ± 50 Гц.

При переходе подковоносов этого вида на активный режим работы эхолокатора обнаруживается еще одна особенность локационных сигналов. В этой ситуации у летучих мышей с разрушенными задними холмами отмечается повышение (на 500 — $1\,200$ Гц) частоты ПЧ-части зондирующих сигналов, в то время как у интактных больших подковоносов в аналогичных ситуациях наблюдалось незначительное (на 100 — 150 Гц) понижение частоты.

Полное выключение заднего двуххолмия у большого подковоноса оказало заметное влияние и на частотные спектры излучаемых локационных сигналов, которые в этом случае содержали большое число низкочастотных и высокочастотных составляющих. При этом наибольшая часть энергии соответствовала низкочастотным спектральным составляющим. У всех летучих мышей с разрушенными задними холмами частота энергетически наиболее выраженной низкочастотной составляющей в сигнале варьировала в пределах 8 — 45 кГц. Такие изменения в физических характеристиках локационных сигналов были необратимы и отмечались во время всего периода наблюдения у оперированных животных. При анализе временных параметров не удалось выявить достоверных ($P=0,95$) изменений сигналов по сравнению с нормой.

Обсуждение

Проведенные нами исследования показали, что наиболее значительное влияние на дальность эхолокационного обнаружения летучей мышью неподвижных объектов оказывает разрушение заднего двуххолмия, менее значительное — слуховой коры. Обширные разрушения ВКТ приводят лишь в первые послеоперационные сутки к нарушению эхолокационного процесса и способности летучих мышей обнаруживать преграду на предельных дальностях. Отсутствие в литературе данных о роли ВКТ в исследуемом процессе не позволяет нам однозначно говорить о том, за счет каких механизмов идет это восстановление и с достаточной определенностью оценить роль ВКТ в исследуемом процессе. На основании проверки локализационных возможностей оперированных животных можно утверждать, что причиной уменьшения предельной дальности обнаружения преграды у оперированных летучих мышей является ухудшение чувствительности их слуховой системы. Разрушение заднего двуххолмия приводит к изменению частотных характеристик сигналов, так как это звено слухового анализатора является основным в согласовании приемной и излучающей систем летучих мышей [1, 5].

Заслуживающим, на наш взгляд, внимания фактором является существенное изменение поведения при подлете и посадке у летучих мышей после разрушения слуховой коры. Оперированные большие подковоносы длительный период (11—12 сут) предпочитали садиться не на

¹ ПЧ-часть — постоянно-частотная часть импульса подковоноса, составляющая от 80 до 94 % времени звучания импульса сигнала.

тонкую проволоку финишной площадки, а на расположенный рядом толстый и гладкий стержень. Изменения поведения летучих мышей после удаления слуховой области коры отмечались и у гладконосых летучих мышей [8], у которых, как отмечает автор, число неудачных подлетов к уже выбранной мишени обратно пропорционально сложности поставленной перед ними дифференцировкой задачи. Природа этого явления нам пока не ясна, однако описанные факты, как нам кажется, не являются простой случайностью. По-видимому, изменение поведения при посадке летучих мышей на финишную площадку и мишень нельзя объяснить послеоперационными изменениями координации движений или ухудшением способности определять локализацию источника звука, так как в этом случае ухудшение координации движений в равной мере должно влиять на число неудачных подлетов и при предъявлении животным другой пары мишеней, которые значительно различаются. Одним из возможных объяснений, по-видимому, может быть утрата у оперированных животных способности получать информацию о расстоянии до цели по временной задержке, происшедшей между излученным сигналом и его эхом в режиме высокой частоты следования локационных импульсов. В наших экспериментах показано, что как интактные, так и оперированные животные при подлете к финишной площадке увеличивают частоту следования зондирующих сигналов в среднем до 10,7 имп/с, одновременно укорачивая их продолжительность. В качестве подтверждения этого могут рассматриваться данные, полученные на неэхолоцирующих млекопитающих и человеке. Как известно, после повреждения слуховой коры нарушается временное разрешение акустических раздражителей, что проявляется в ухудшении восприятия предельной частоты прерываний звуков и восприятия звуковых последовательностей [9—11, 13].

E. V. Movchan

EFFECT OF DESTRUCTION OF THE AUDITORY CEREBRAL CENTRES ON ECHO-RANGING DETECTION OF OBSTACLES BY BATS RHINOLOPHUS FERRUM-EQUINUM (GREATER HORSESHOE BAT)

Effect of the auditory cortex, internal geniculate bodies and inferior colliculus removal on echo-ranging detection of immovable wire obstacle by bats has been studied in the behavioural procedure. It is shown that destruction of the auditory cortex results in an irreversible decrease (to 74.6 % of control values) in limiting detection range of obstacle by animals. Extensive destructions of internal geniculate bodies decrease limiting detection range only in the first postoperative days. In the case of the inferior colliculus removal the limiting detection range irreversibly decreases to values equaling 38.5 % of control ones. A suggestion that the obtained effects are a consequence of the auditory system sensitivity deterioration in bats is substantiated.

Research Institute of Physiology of University,
Ministry of Higher and Secondary Special Education
of the RSFSR, Leningrad

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурикова Н. В., Мовчан Е. В. Роль заднего двуххолмия в функции голосового аппарата у летучих мышей // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. — 1986. — 22, № 3. — С. 309—316.
2. Константинов А. И., Макаров А. К., Соколов Б. В., Соколова Н. Н. Биоакустические особенности и принципы функционирования эхолокационной системы подковоносых летучих мышей // Тр. VIII Всесоюз. акуст. конф. — 1973. — 1. — С. 136.
3. Константинов А. И., Мовчан Е. В. Роль слуховой области коры и заднего двуххолмия в регуляции эхолокационного процесса у подковоносых летучих мышей // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. — 1984. — 20, № 1. — С. 70—78.
4. Мовчан Е. В. Влияние разрушения задних холмов четверохолмия на функционирование эхолокационной системы подковоносых летучих мышей // Нейрофизиология. — 1980. — 12, № 4. — С. 383—389.
5. Мовчан Е. В. Участие слуховых центров подковоносых летучих мышей в эхолока-

- ционном слежении за движущейся целью // Там же.— 1984.— 16, № 6.— С. 737—745.
6. Мовчан Е. В., Бурикова Н. В. Влияние удаления слуховой коры на функционирование доплеровской эхолокационной системы подковоносых летучих мышей // Нейрофизиология.— 1982.— 14, № 1.— С. 43—50.
 7. Соколов Б. В., Липманова Е. Э., Эхолокационная оценка скорости движения подковоносими летучими мышами // Вестн. ЛГУ.— 1977, № 15.— С. 85—103.
 8. Соколова Н. Н. Роль слуховой области коры мозга летучих мышей в эхолокации: Автореф. дис. ... канд биол наук.— Л., 1974.— 18 с.
 9. Efron R. Temporal perception, aphasia and deja vu // Brain.— 1963.— 86.— P. 403—424.
 10. Kelly J. B., Whitfield I. C. Effects of auditory cortical lesions on discriminations of rising and falling frequency-modulated tones // J. Neurophysiol.— 1971.— 34, N 7.— P. 802—816.
 11. Lackner J. R., Teuber H. L. Alterations in auditory fusion thresholds after cerebral injury in man // Ibid.— 1973.— 11, N 3.— P. 403—415.
 12. Schnitzler H.-U. Die Ultraschall-Ortungslaute der Hufeisenfledermäuse (Chiroptera-Rhinolophidae) in verschiedenen Orientierungssituation // Vergl. Physiol.— 1968.— 57.— P. 376—408.
 13. Tallat P., Piercy M. Defects of non-verbal auditory perception in children with developmental aphasia // Nature (London).— 1973.— 241.— P. 468—469.

Науч.-исслед. ин-т физиологии им. А. А. Ухтомского
Ленинград. ун-та М-ва высш.
и сред. спец. образования СССР

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 616.36:612.89:577.158—092.4

А. Х. Аширметов, М. Э. Краковский

Значение парасимпатического отдела нервной системы для регуляции активности микросомальной монооксигеназы в печени крыс

В настоящее время многие вопросы проблемы нервной регуляции метаболических процессов в организме остаются недостаточно разрешенными. Имеющиеся сведения в основном касаются роли соматических нервов в регуляции ферментов гликолиза и энергетического обмена в денервированных мышцах [3, 7], а также трофической роли симпатической нервной системы [5]. Регулирующему влиянию парасимпатических нервов посвящено небольшое число работ, касающихся в основном изменений активности ферментов энергетического обмена печени в отдельные сроки ваготомии [8]. Работ, посвященных анализу роли парасимпатической иннервации в поддержании активности ферментов микросомальной окислительной системы (МОС) гепатоцитов, ответственности за осуществление печенью ее детоксикационных потенциальных возможностей, в литературе нет.

Методика

Эксперименты проведены на 40 крысах-самцах линии Вистар, исходная масса которых 200—240 г, содержащихся в виварии на обычном лабораторном рационе. С целью блокады или стимуляции вегетативной нервной системы использовали следующие приемы: введение животным атропин-сульфата, поддиафрагмальную двухстороннюю ваготомию, введение прозерина и ацетилхолина. Препараты вводили внутривентрикулярно: атропина — 10 мг/кг, прозерина — 0,03 мг/кг один раз в сутки, ацетилхолина — 0,1 мг/кг каждые 12 ч в течение 6 сут подряд. Поддиафрагмальную ваготомию осуществляли через разрез по белой линии живота. Операцию проводили под эфирным масочным наркозом. Контролем в этом случае служили ложнопериоперированные животные, а в опытах с введением препаратов — животные, которым вводили дистиллированную воду в объеме, соответствующем объему вводимых препаратов. Через 7 сут после начала эксперимента крыс декапитировали в холодной комнате. Печень извлекали, промывали

© А. Х. АШИРМЕТОВ, М. Э. КРАКОВСКИЙ, 1990.

холодной средой, состоящей из 0,15 моль NaCl в 0,05 моль/л трис-HCl буфере, pH которого 7,8. Микросомальную фракцию выделяли методом дифференциального центрифугирования на центрифуге VAC-601 при 105 000 g. В микросомах определяли содержание цитохромов P_{450} и b_5 [12], активность *n*-деметилазы амидопирин [11], гидроксилазы анилина и паранитрофенола [1, 9], НАДФ·Н-цитохром-с-редуктазы [11], содержание микросомального белка [10]. Результаты экспериментов обрабатывали методом вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Как видно из таблицы, парасимпатическая денервация печени сопровождается отчетливым снижением содержания в ней цитохромов P_{450} и b_5 , а также активности анилингидроксилазы и НАДФ·Н-цитохром-с-редуктазы на 45, 25, 28,5 и 21,8 % соответственно по сравнению с контролем. Введение животным атропина в течение 6 сут приводило к снижению в гепатоцитах содержания цитохрома P_{450} (на 50,5 %), активности анилингидроксилазы (на 31 %) и НАДФ·Н-цитохром-с-редуктазы (на 16,5 %) на фоне несущественных сдвигов активности *n*-нитрофенолгидроксилазы, амидопирин-*n*-деметилазы и некоторого возрастания содержания цитохрома b_5 . Иная направленность изменений активности микросомальных ферментов обнаружена при фармакологической стимуляции парасимпатического отдела вегетативной нервной системы

Показатели микросомальной окислительной системы печени у крыс при угнетении или стимуляции парасимпатического отдела вегетативной нервной системы

Показатель	Контроль	Ваготомия	Атропин	Ацетилхолин	Прозерин
Концентрация цитохрома в гемопро- теинах, нмоль/мг:					
P_{450}	0,55±0,06	0,31±0,03*	0,27±0,03*	0,41±0,09	0,48±0,05
b_5	0,20±0,04	0,15±0,01	0,32±0,07	0,15±0,02	0,19±0,05
Активность фермента, нмоль·мг ⁻¹ ·мин ⁻¹					
амидопириндемети- лазы	9,84±1,60	8,58±1,20	8,27±1,19	10,0±1,15	11,8±0,60
анилингидроксилазы	1,06±0,05	0,72±0,06*	0,69±0,10*	1,22±0,10	1,44±0,17*
<i>n</i> -нитрофенолгидро- ксилазы	0,59±0,045	0,49±0,10	0,55±0,10	0,77±0,10	0,86±0,07*
НАДФ·Н-цитохром- с-редуктазы	112,9±17,0	88,3±9,4	94,2±12,3	118,1±6,5	119,5±11,1

$P < 0,05$.

ацетилхолином и прозеринном. В этом случае наблюдалось повышение по сравнению с контрольной группой животных активности анилингидроксилазы и паранитрофенолгидроксилазы. Причем изменения были более выраженными при введении животным прозерина. Содержание цитохромов P_{450} и b_5 , активность *n*-деметилазы амидопирин и НАДФ·Н-цитохром-с-редуктазы при парасимпатической стимуляции существенно не изменялись. Следовательно, поддиафрагмальная ваготомия и в меньшей мере фармакологическая блокада *p-vagus* атропином приводят к угнетению активности ферментов МОС печени, тогда как стимуляция парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, напротив, увеличивает их активность.

Обращает на себя внимание некоторое несоответствие меры и направленности изменений ферментной активности отдельных компонентов МОС, наблюдаемое при денервации печени и блокаде блуждающего нерва атропином, а также при введении ацетилхолина и прозерина. Если поддиафрагмальная ваготомия сопровождается выраженным односторонним угнетением активности практически всех исследованных ферментов, то атропинизация наиболее резко снижает лишь активность анилингидроксилазы и содержание цитохрома P_{450} , тогда как

активность остальных микросомальных ферментов изменяется весьма незначительно. Известно, что нервная регуляция (соматических и вегетативных функций) осуществляется двумя путями: первый путь включает действие на эффекторный орган медиаторов, выделяемых в симпатическую щель, а второй — электротонические влияния нервов, реализуемые через аксоплазматический ток [4]. В связи с этим менее выраженные изменения активности амидопирин-*n*-деметилазы и *n*-нитрофенолгидроксилазы, обнаруженные нами при введении животным атропина, вероятно, объясняются тем, что регулирующие парасимпатические влияния на ферменты МОС реализуются в основном через последний механизм. Кроме того, в связи с тем, что атропин блокирует только М-холинорецепторы, тогда как перерезка блуждающего нерва устраняет также влияние на N-холинорецепторы, не исключено, что в основе обнаруженных нами различий лежит неоднозначное влияние на ферменты МОС. Неодинаковая выраженность изменений активности ферментов МОС, наблюдаемых при фармакологической стимуляции парасимпатических нервов ацетилхолином и прозеринном, обусловлена, вероятно, продолжительностью их действия. Ацетилхолин вследствие быстрого гидролиза в крови холинэстеразой вызывает возбуждение вегетативной нервной системы в меньшей по сравнению с прозеринном мере, что и отражается на изменении активности МОС. В то же время, однонаправленность действия обоих препаратов позволяет заключить, что обнаруженные изменения активности ферментов МОС связаны именно со стимуляцией вегетативной нервной системы. Одним из возможных механизмов увеличения активности анилин- и паранитрофенолгидроксилаз на фоне незначительных изменений содержания цитохромов P_{450} и b_5 в этом случае является стимуляция синтеза определенных форм цитохрома P_{450} , которая может реализоваться через вторичные мессенжеры, в частности, цАМФ, играющую существенную роль в регуляции ферментативной активности в организме млекопитающих [2].

Существует точка зрения о том, что замечательной особенностью нервной регуляции процессов метаболизма в органах человека и животных является способность изменять активность ключевых ферментов, ответственных за течение всего цикла биохимических процессов в целом [6].

Поскольку цитохром P_{450} как ключевой фермент МОС печени был представлен группой гемопротеинов, имеющих различную молекулярную массу, индуцибельность и субстратную специфичность, полученные нами результаты свидетельствуют об изменении активности различных ферментов МОС под действием денервации, фармакологической блокады или стимуляции вегетативных нервов и расширяют представления о характере нервной регуляции различных ферментов.

Таким образом, блокада или стимуляция парасимпатического отдела вегетативной нервной системы у крыс сопровождается разнонаправленными изменениями активности ферментов МОС печени, что свидетельствует о наличии нервного контроля над этими процессами. В наибольшей мере нервной регуляцией охвачены ключевые ферменты микросомальной монооксигеназы, а именно цитохром P_{450} . Полученные результаты открывают перспективу для поиска путей воздействия на основные звенья метаболизма через изменения функций вегетативных нервов.

А. Kh. Ashirmetov, М. Е. Krakovsky

SIGNIFICANCE OF THE PARASYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM FOR REGULATION OF THE MICROSOMAL MONOOXYGENASE ACTIVITY IN THE RAT LIVER

The effect of vegetative nervous system activation or depression (subdiaphragmal vagotomy, atropine, proserine and acetylcholine treatments) on the hepatic microsomal enzymes activities has been studied on Wistar male rats. It is found, that hepatic denervati-

on and atropine treatment decreased cytochrome P₄₅₀ content and aniline hydroxylase activity. Prozerine and acetylcholine induced an opposite effect.

It is considered that these different changes in the microsomal enzyme activities with variations in the vegetative nervous system state have proved the nervous control of these processes.

Central Research Laboratory of Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Uzbek SSR, Tashkent

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арчаков А. И., Карузина И. Н., Тверитинов В. Н., Кокарева И. С. Гидроксильрование производных анилина и аминокантипирина (1-фенил-2,3-диметиламинопиразолон-5) в эндоплазматическом ретикулуме печени // Биохимия. — 1975. — 40, № 1. — С. 32—39.
2. Васильев В. Ю., Гуляев Н. Н., Северин Е. С. Циклический аденозин-монофосфат — биологическая роль и механизм действия // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Менделеева. — 1975. — 20, № 3. — С. 306—322.
3. Говырин В. А. Трофическая функция симпатических нервов сердца и скелетных мышц. — Л.: Наука, 1967. — 100 с.
4. Голиков С. Н., Долго-Сабуров В. Б., Елаев Н. Р., Кулешов В. И. Холинергическая регуляция биохимических систем клетки. — М.: Медицина, 1985. — 224 с.
5. Зайко Н. Н. Развитие учения о нервной трофике // Патол. физиология. — 1978. — № 2. — С. 3—11.
6. Ильин В. С. Эволюционный аспект изучения биохимических основ нервной трофики // Журн. эволюц. биохимии. — 1970. — VI, № 2. — С. 148—161.
7. Ильин В. С., Емельянец А. М., Комаров Г. П. и др. Биохимические основы нервной трофики и ее нарушения в скелетной мышце // Там же. — 1972. — VIII, № 3. — С. 240—251.
8. Парфенова Н. С. Влияние двусторонней поддиафрагмальной ваготомии на активность некоторых ферментов энергетического обмена в печени // Бюл. эксперим. биологии. — 1976. — № 7. — С. 814—815.
9. Koop D. R. Hydroxylation of p-nitrophenol by rabbit ethanolinducible cytochrome P₄₅₀ isozyme 3a // Mol. Pharmacol. — 1986. — 29. — P. 399—404.
10. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L., Rondall R. I. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — 193, N 1. — P. 265—275.
11. Masel P. Experiments illustrating drug metabolism in vitro // Fundamentals of drug metabolism and drug disposition. — Baltimore: Williams and Wilkins, 1971. — P. 546—590.
12. Omura T., Sato R. The carbon-monoxide binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature // J. Biol. Chem. — 1964. — 219, N 7. — P. 2370—2378.

Центр. науч. лаборатория Ташкент. мед. ин-та
М-ва здравоохранения УзССР

Материал поступил
в редакцию 20.02.90

УДК 612.35+577.175.53

А. И. Масюк, Е. Н. Долгова

Возможный механизм регуляции желчеотделительной функции печени гидрокортизоном

Наряду с основными метаболическими эффектами глюкокортикоидов в печени — активацией различных ферментных систем, усилением глюконеогенеза, синтеза РНК и белков, наблюдается выраженное влияние гормонов на желчеотделительную функцию [4, 5, 11]. В клетках печени, в отличие от других органов и тканей, глюкокортикоиды, как правило, оказывают стимулирующее влияние на многие процессы [3, 7]. Не является исключением и секреция желчи. По данным ряда авторов [4, 5, 11], введение глюкокортикоидов вызывает у животных усиление желчеотделения, сопровождающееся изменением качественного состава желчи. Механизмы регуляции желчеотделительной функции печени глюкокортикоидами не известны.

© А. И. МАСЮК, Е. Н. ДОЛГОВА, 1990.

В соответствии с современными представлениями о молекулярных механизмах действия глюкокортикоидов реализация их эффектов в большинстве случаев опосредуется усилением транскрипции и трансляции [3, 7]. Иными словами, механизмы гормональной регуляции функционального состояния клеток печени очень часто сводятся к гормональной индукции генетически детерминированного биосинтеза белка. Исходя из этого, можно предположить, что регуляция глюкокортикоидами желчеотделительной функции печени, так же как и регуляция других ее функций, опосредуется усилением транскрипции и трансляции.

Цель нашей работы заключается в экспериментальной проверке этого предположения. Исследовали влияние гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени крыс в норме и при введении специфических ингибиторов транскрипции (синтеза РНК) — актиномицина Д, и трансляции (синтеза белка) — циклогексимида и пурамицина.

Методика

Исследования выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 180—220 г. О характере желчеотделения судили по объемной скорости желчотока (мкл желчи·г⁻¹ печени·мин⁻¹), определяемой сбором 15-минутных порций желчи после канюлирования общего желчного протока. Исследования проводили в остром опыте под тиопенталовым наркозом (50 мг/кг).

В первой серии опытов гидрокортизон-ацетат (фирма «Gedeon Richter», Венгрия; 12,5, 25 и 50 мг/кг) вводили подкожно. Во второй серии опытов актиномицин Д, циклогексимид и пурамицин (5, 20 и 20 мкг/100 г соответственно) вводили в воротную вену крыс методом инфузии. Скорость инфузии 0,05 мл/мин, время — 30 мин. Сразу после окончания инфузии ингибиторов транскрипции и трансляции животным вводили гидрокортизон (50 мг/кг). Во всех случаях исследования начинали после определения исходного значения скорости желчотока. Продолжительность опыта, начиная с момента канюлирования общего желчного протока, составляла 4,5 ч. Первую 15-минутную порцию желчи отбрасывали. Исходное значение скорости желчотока рассчитывали на основании результатов сбора желчи в течение последующих 45 мин.

Результаты и их обсуждение

Как и в предыдущих наших исследованиях [2, 6], об изменении желчеотделения судили по разнице между объемной скоростью желчотока, характеризующей исходную секрецию желчи, и ее значением в определенный момент наблюдений после соответствующего воздействия. Регистрация скорости желчотока у животных контрольной группы показала, что в течение 4—5 ч опыта интенсивность секреции желчи практически не изменяется [2]. Так как исходное значение скорости желчотока у разных групп животных может варьировать в достаточно широких пределах, при проведении каждой серии опытов мы подбирали животных с относительно близкой исходной секрецией желчи. Всего было подобрано 6 групп животных с исходным значением скорости желчотока, составляющим $0,98 \pm 0,08$ ($n=3$), $1,14 \pm 0,08$ ($n=8$), $1,16 \pm 0,10$ ($n=5$), $1,23 \pm 0,07$ ($n=5$), $1,26 \pm 0,09$ ($n=11$), $1,30 \pm 0,08$ ($n=7$) мкл·г⁻¹·мин⁻¹.

Результаты исследований (рис. 1) показали, что подкожное введение гидрокортизона (50 мг/кг) оказывает стимулирующее влияние на желчеотделительную функцию печени. Усиление секреции желчи отмечено уже в первые 15 мин после введения гормона. Скорость желчотока при этом увеличивалась от $1,23 \pm 0,07$ до $1,49$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹ $\pm 0,09$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹, или на 21 % ($P < 0,05$). Через 30 мин после введения гидрокортизона объемная скорость желчотока увеличивалась до $1,54$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹ $\pm 0,08$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹, или на 25 % ($P < 0,02$). В течение последующих 30 мин скорость желчотока сохранялась примерно такой же — $(1,50 \pm 0,10)$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹ ($P < 0,05$), а затем начинала постепенно снижаться. К исходному значению она возвращалась через 2 ч после введения гормона.

Таким образом, однократное введение гидрокортизона вызывает у крыс быстрое обратимое усиление желчеотделительной функции печени. Продолжительность наблюдаемого эффекта составляет 2 ч. В меньших дозах (см. рис. 1) гидрокортизон либо не влияет на желчеотделительную функцию печени (12,5 мг/кг), либо оказывает незначительное стимулирующее влияние на скорость желчеотока (25 мг/кг). Полученные нами результаты, свидетельствующие о стимулирующем влиянии гидрокортизона на секрецию желчи, согласуются с дан-

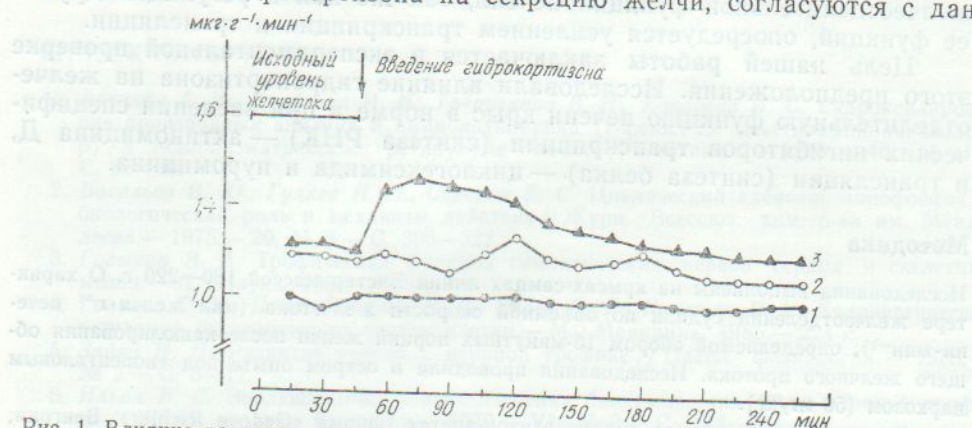


Рис. 1. Влияние различных доз гидрокортизона на динамику объемной скорости желчеотока (мкл·г⁻¹·мин⁻¹) у крыс: 1 — 12,5 мг/кг; 2 — 25 мг/кг; 3 — 50 мг/кг.

ными исследований других авторов, изучавших влияние этого гормона на различные метаболические процессы в клетках печени. Установлено, что метаболические эффекты гидрокортизона, в том числе усиление транскрипции и трансляции, также проявляются в печени крыс уже в первые 10—30 мин после введения гормона [8, 9].

Принято считать, что гормональная регуляция какой-либо физиологической функции клетки опосредуется усилением транскрипции или трансляции, если ингибиторы ДНК-зависимого синтеза РНК или синтеза белка препятствуют развитию изменений, возникающих в клетке в ответ на действие гормона. Если же ингибиторы транскрипции и трансляции не влияют на развитие соответствующих изменений, то делается заключение, что гормональная регуляция изучаемой функции осуществляется посредством механизмов, не связанных с индукцией биосинтеза белка [7].

Применительно к задаче нашего исследования эти представления дают основание ожидать, что, если регуляция желчеотделительной функции печени глюкокортикоидами осуществляется через механизмы гормональной индукции, то при их нарушении ингибиторами транскрипции и трансляции мы не будем наблюдать тех изменений объемной скорости желчеотока, которые обычно вызываются введением гидрокортизона. И, напротив, проявление этих изменений при введении гидрокортизона в присутствии ингибиторов транскрипции и трансляции будет свидетельствовать о том, что регуляция желчеотделения в данном случае осуществляется без участия механизмов гормональной индукции биосинтеза белка в гепатоцитах.

Ранее нами показано [2], что инфузия актиномицина Д, пурамицина и циклогексимида приводит к характерным изменениям желчеотделения у крыс. При введении каждого из них скорость желчеотока снижалась, причем это снижение наблюдалось уже в период инфузии, т. е. в течение первых 30 мин опыта. В данном исследовании инфузия ингибиторов транскрипции и трансляции в большинстве случаев также приводила к достоверному угнетению желчеотделительной функции печени. Количество отделяемой желчи во время инфузии актиномицина Д, циклогексимида и пурамицина уменьшалось на 20 % ($P < 0,05$), 9 % ($P > 0,1$) и 35 % ($P < 0,01$) соответственно (рис. 2).

Результаты, свидетельствующие о влиянии гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени крыс при нарушении механизмов гормональной индукции биосинтеза белка, представлены на рис. 2. Они указывают на то, что предварительное введение ингибиторов транскрипции и трансляции существенно изменяет характер функционального ответа клеток печени на введение гидрокортизона.

Сравнение кривых, представленных на рис. 1 и рис. 2, показывает, что нарушение транскрипции или трансляции в клетках печени специ-

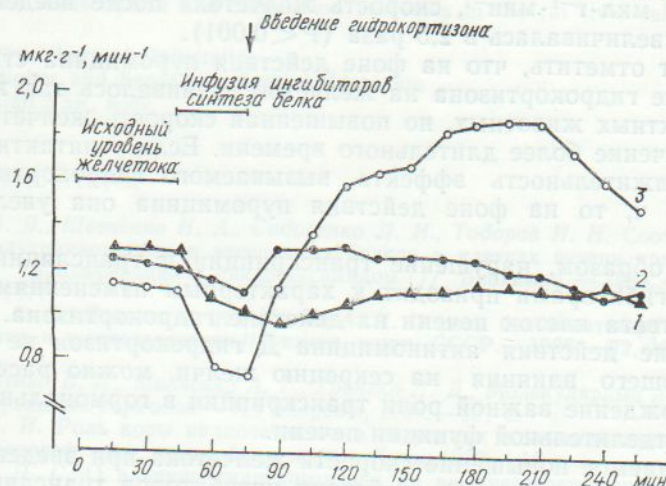


Рис. 2. Динамика объемной скорости желчеотока ($\text{мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) у крыс после введения гидрокортизона (50 мг/кг) на фоне действия специфических ингибиторов синтеза белка:

1 — актиномицин Д, 2 — циклогексимид, 3 — пуромицин.

фическими ингибиторами приводит к характерным для каждого случая изменениям скорости желчеотока в ответ на действие гидрокортизона. Так, если у интактных животных введение гидрокортизона приводило к повышению скорости желчеотока уже в первые 15 мин, то при нарушении транскрипции актиномицином Д введение гидрокортизона не вызывало повышения скорости желчеотока. Следует отметить еще одну характерную особенность влияния гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени на фоне действия актиномицина Д. Как показано нами ранее [2], уже во время инфузии актиномицина Д, пуромицина и циклогексимида происходит снижение скорости желчеотока, которое сохраняется в течение последующих 3—4 ч опыта. Введение гидрокортизона сразу после окончания инфузии актиномицина Д приводило к тому, что снижение скорости желчеотока прекращалось, и ток желчи стабилизировался (см. рис. 2).

Введение гидрокортизона на фоне действия циклогексимида также стабилизировало скорость желчеотока, предотвращая ее дальнейшее понижение, которое наблюдалось обычно при инфузии этого ингибитора синтеза белка [2]. Характерной особенностью влияния гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени при нарушении трансляции циклогексимидом является повышение скорости желчеотока, которое сравнимо с изменениями, вызываемыми гидрокортизоном у интактных животных. Так, через 45 мин после введения гидрокортизона на фоне действия циклогексимида объемная скорость желчеотока повышалась от $(1,12 \pm 0,07)$ до $(1,34 \pm 0,07) \text{ мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, или на 20 % ($P < 0,05$).

Особый интерес в этой серии опытов представляют результаты, полученные при исследовании влияния гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени крыс, которым предварительно вводили пуромицин (см. рис. 2). Инфузия пуромицина, как показано нами ранее [2], вызывает быстрое и значительное снижение скорости желчеотока. Введение гидрокортизона сразу после окончания инфузии пуромицина

приводило в течение первых 15 мин к восстановлению скорости желчеотока до исходного значения. Далее скорость желчеотока продолжала увеличиваться и через 90 мин после введения гидрокортизона достигала максимума — $(1,87 \pm 0,20)$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹, превышая исходное значение $(1,14 \text{ мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1} \pm 0,08 \text{ мкл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1})$ на 64 % ($P < 0,01$). Большая скорость желчеотока сохранялась в течение последующих 60 мин, а затем начинала постепенно снижаться. По сравнению со скоростью желчеотока, наблюдавшейся после инфузии пурамицина — $(0,74 \pm 0,04)$ мкл·г⁻¹·мин⁻¹, скорость желчеотока после введения гидрокортизона увеличивалась в 2,5 раза ($P < 0,001$).

Следует отметить, что на фоне действия пурамицина стимулирующее влияние гидрокортизона на желчеоток развивалось так же быстро, как у интактных животных, но повышенная скорость желчеотока сохранялась в течение более длительного времени. Если у интактных животных продолжительность эффекта, вызываемого гидрокортизоном, составляла 2 ч, то на фоне действия пурамицина она увеличивалась до 3 ч.

Таким образом, нарушение транскрипции и трансляции специфическими ингибиторами приводит к характерным изменениям функционального ответа клеток печени на действие гидрокортизона. Тот факт, что на фоне действия актиномицина Д гидрокортизон не оказывает стимулирующего влияния на секрецию желчи, можно рассматривать как подтверждение важной роли транскрипции в гормональной регуляции желчеотделительной функции печени.

Наблюдаемое повышение скорости желчеотока при введении животным гидрокортизона на фоне действия ингибиторов трансляции — циклогексимида и пурамицина требует специального объяснения. Если исходить из того, что желчеотделительная функция печени в своей основе является цепью последовательных и взаимосвязанных метаболических процессов, то логично допустить, что при попадании пурамицина или циклогексимида в клетки печени может нарушаться синтез ферментных и регуляторных белков, а следовательно, и вся цепь метаболических превращений, имеющих отношение к желчеотделению [2, 6]. В результате секреция желчи снижается. Однако известно, что транскрипция в клетках печени крыс при блокаде трансляции специфическими ингибиторами, в частности, циклогексимидом, не только не угнетается, а напротив, усиливается [1, 10]. Это приводит к накоплению в гепатоцитах мРНК для ферментных и других белков, в том числе, по-видимому, и для белков, обеспечивающих клеточные и молекулярные механизмы секреции желчи. Так как нарушение трансляции циклогексимидом и пурамицином является обратимым, введение гидрокортизона может при определенных условиях стимулировать трансляцию накопившейся мРНК, что в итоге приведет к усилению секреции желчи.

Молекулярные механизмы блокады биосинтеза белка пурамицином и циклогексимидом различны и в упрощенном виде могут быть сведены к освобождению незавершенных полипептидов с рибосом в первом случае и к их прочному связыванию с рибосомами — во втором. Иными словами, возможность трансляции мРНК в клетках печени при введении гидрокортизона на фоне действия пурамицина и циклогексимида различна. Это проявляется и в физиологическом ответе гепатоцитов на действие гидрокортизона, в данном случае, — в интенсивности секреции желчи.

Таким образом, результаты проведенных исследований показывают, что регуляция гидрокортизоном желчеотделительной функции печени, так же как и регуляция других ее функций, осуществляется с участием механизмов гормональной индукции генетически детерминированного биосинтеза белка.

A. I. Masyuk, E. N. Dolgova

A POSSIBLE MECHANISM OF THE BILE SECRETION REGULATION BY HYDROCORTISONE

Hydrocortisone has been studied for its effect on the bile secretion in rat under normal conditions and malfunction of hormonal induction mechanisms due to specific inhibitors of protein synthesis by actinomycin D, cycloheximide and pyromycin. The character of changes in bile flow rate, observed as a response to hydrocortisone injection, depends on the intensity of transcription and translation processes in the rat liver cells.

Institute of Physiology of University,
Ministry of Higher and Secondary Special Education
of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойков П. Я., Шевченко Н. А., Сидоренко Л. И., Тодоров И. Н. Соотношение биосинтеза внутриклеточных и экспортных белков в клетках печени крыс в процессе индукции пролиферации циклогексимидом // Биохимия. — 1984. — 49, № 9. — С. 1470—1477.
2. Есипенко Б. Е., Долгова Е. Н., Масюк А. И. О роли белоксинтезирующей системы гепатоцитов в желчеотделении // Физиол. журн. СССР. — 1986. — 72, № 4. — С. 528—532.
3. Комиссаренко В. П., Минченко А. Г., Тронько Н. Д., Молекулярные механизмы действия стероидных гормонов. — К.: Здоров'я, 1986. — 191 с.
4. Лесюк И. И. Роль коры надпочечников в регуляции желчеотделительной функции печени: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1970. — 16 с.
5. Лященко П. С. О влиянии гидрокортизона на внешнесекреторную функцию печени // Пробл. физиол. гипоталамуса. — 1972. — 6. — С. 89—93.
6. Масюк А. И., Островская Г. В., Долгова Е. Н. Активность Na, K-АТФазы плазматических мембран гепатоцитов при нарушении желчеотделительной функции печени ингибиторами синтеза белка // Физиол. журн. — 1989. — 35, № 1. — С. 40—44.
7. Мертвецов Н. А. Гормональная регуляция экспрессии генов. — М.: Наука, 1986. — 207 с.
8. Минченко А. Г. Биосинтез митохондриальных белков у адrenaлэктомированных крыс: влияние гидрокортизона // Пробл. эндокринологии. — 1987. — 33, № 6. — С. 51—55.
9. Минченко А. Г. Зависимое от времени стимулирующее действие гидрокортизона на биосинтез митохондриальных РНК в печени крыс // Там же. — 1989. — 37, № 5. — С. 72—77.
10. Тодоров И. Н., Галкин А. П. Об особенностях биосинтеза РНК в клетках печени крыс в условиях продолжительного подавления биосинтеза белка циклогексимидом // Мол. биология. — 1975. — 2. — С. 81—104.
11. Miner P. B., Sutherland E., Simon F. R. Regulation of hepatic sodium plus potassium-activated adenosine triphosphatase activity by glucocorticoids in the rat // Gastroenterology. — 1980. — 79, N 2. — P. 212—221.

Науч.-исслед. ин-т физиологии Киев. ун-та
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил
в редакцию 25.06.88

УДК 577.161.2

А. В. Паранич, Л. А. Чайкина

Влияние алиментарных факторов на образование первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов

Как известно, увеличение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) происходит при обогащении рациона ненасыщенными жирными кислотами (НЖК), дефиците витамина Е, а также при избытке антиоксидантов, в частности, витаминов: С, Е, А. Так, например, опти-

© А. В. ПАРАНИЧ, Л. А. ЧАЙКИНА, 1990.

мальная доза витамина Е, обеспечивающая антиоксидантный эффект при скормливания НЖК, составляет 200 мг/кг, более высокие его дозы вызывают прооксидантный эффект [12]. Однако не всегда отклонение от оптимальной дозы антиоксидантов сопровождается гиперпродукцией липопероксидов. Так, при изучении ряда параметров синдрома раннего старения в условиях дефицита витамина Е у одного из мутантов *Neurospora crassa* не изменилось количество малонового диальдегида (МДА) [16]. В мозгу мышей, содержащихся на диетах, десятикратно обогащенных витамином Е, также не наблюдалось патологических изменений количества перекисей липидов и флюоресцирующих продуктов ПОЛ — липопигментов (ЛП) [22]. Подобные расхождения экспериментальных данных объясняются рядом причин, среди которых наиболее важными являются следующие: особенности химического состава НЖК (количество и расположение двойных связей), что определяет пути их метаболизма [14], и, в частности, накопление пигмента старения — липофусцина [21]; физиологические факторы, обуславливающие возрастные особенности активности эндогенного НАДФ·Н-зависимого «антиоксидантного фона», который снижает чувствительность старых животных к Е-гиповитаминозу [20] вследствие активации ферментативных антиокислительных систем [5]. Эти физиологические механизмы проявляются и в сезонной ритмике интенсивности ПОЛ — количество МДА в тканях животных варьирует в период весна — осень от 0,12 до 0,043 ед. экст./г ткани [1], обеспечивая утилизацию продуктов ПОЛ в процессе адаптационной перестройки мембран [6].

Целью нашей работы было выявление влияния физиологической дозы витамина Е на развитие процесса ПОЛ в условиях содержания животных на рационе, обогащенном НЖК.

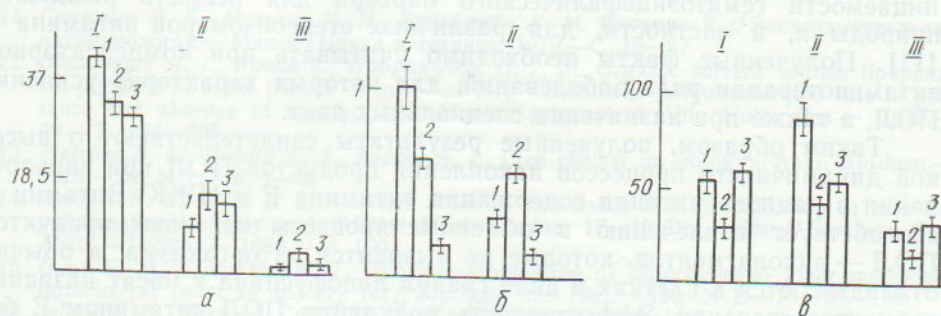
Методика

В экспериментах использовали самок крыс линии Вистар 3-месячного возраста. Учитывая высокую динамичность и короткое время обновления пула жирных кислот в фосфолипиде мембран (11 сут) [15], трем группам животных в течение 12 сут скормливали диеты, различающиеся содержанием НЖК и витамина Е. В качестве источника НЖК использовали рыбу, поскольку в жире рыб содержатся в основном *n*-3-полиненасыщенные жирные кислоты (линоленовая кислота 18:3 *n*-3), метаболизм которых достаточно изучен [19]. Первая группа — контроль — получала стандартный сбалансированный рацион вивария; вторая — только рыбу *ad libitum*; третья — рыбу с добавлением витамина Е в виде фармакопейного масляного раствора α -токоферилацетата (30 %-ный раствор) из расчета 60 мг витамина Е на 1 кг корма. После декапитации животных в плазме крови, в печени и мозгу определяли следующие показатели: содержание α -токоферола методом Emmeri — Engel с использованием тонкослойной хроматографии [9] и диеновых конъюгатов — спектрофотометрически по оптической плотности при длине волны 233 нм [4]; интенсивность флюоресценции липопигментов методом Fletcher — Tappel с использованием в качестве стандарта раствора хининсульфата (1 мкг/мл в 0,1 н растворе H_2SO_4). Полученные результаты обрабатывали методами математической статистики по Стьюденту и парных сравнений [10].

Результаты и их обсуждение

На рисунке представлены результаты исследования влияния жирнокислотного состава диеты и витамина Е на содержание диеновых конъюгатов, флюоресцирующих липопигментов и α -токоферола в печени, мозгу и плазме крови крыс. По совокупности этих параметров оценивали интенсивность и направленность ПОЛ, а также антиокислительный статус организма. Анализ полученных результатов показывает, что в тканях исследуемых органов животных контрольной группы наибольшая интенсивность ПОЛ характерна для печени, если судить по накоплению первичных (диеновые конъюгаты) и содержанию конечных (липигменты) продуктов ПОЛ.

Известно, что избыточное поступление НЖК приводит к пропорциональному накоплению жирорастворимых пигментов [7, 12]. Поэтому можно было ожидать увеличения количества липопигментов во всех тканях крыс второй группы. Однако такая закономерность в случае исследования ткани печени не наблюдалась. Уменьшение содержания первичных и конечных продуктов ПОЛ в печени этих крыс наряду со снижением содержания витамина Е указывает на преимущественную утилизацию НЖК на пластические нужды, а не на усиление ПОЛ. До-



Показатели интенсивности и направленности перекисного окисления липидов в тканях печени (I), мозга (II) и в плазме крови (III) у животных контрольной группы (1), содержащихся на жирнокислотной диете (2), и на той же диете с добавлением витамина Е (3):

а — концентрация диеновых конъюгатов, нмоль/г; б — концентрация липопигментов, ед. экст./г; в — удельная концентрация α-токоферола, мкг/г.

полнительное введение витамина Е (третья группа) оказывало существенное влияние на содержание конечных продуктов ПОЛ — липопигментов. Наши наблюдения позволяют предположить возможность вовлечения в обменные процессы таких конечных продуктов ПОЛ, как липопигменты, по крайней мере, в молодом возрасте. Этот процесс сопровождался полным восстановлением антиокислительного статуса организма, за исключением ткани мозга, где увеличение содержания витамина Е было менее выраженным.

В отличие от печени в мозгу животных, получавших рыбную диету, наблюдалась интенсификация ПОЛ на начальных этапах и на этапе усиленного накопления липопигментов, что согласуется с общим представлением о влиянии НЖК на ПОЛ. Введение в рацион витамина Е (третья группа) не оказывало влияния на начальный этап ПОЛ (стадия образования диеновых конъюгатов), но существенно снижало содержание конечного продукта (липопигментов). Поскольку полного восстановления содержания витамина Е до значений контроля не наблюдалось, то можно предположить, что в мозгу витамин Е утилизируется при компенсации перекисных повреждений.

Снижение содержания витамина Е в плазме крови крыс, получавших диету, обогащенную НЖК, свидетельствует о существенном ослаблении антиокислительного статуса организма в целом. По данным литературы известно, что добавление витамина Е животным в состоянии Е-гиповитаминоза без выраженных клинических признаков предупреждает накопление липофусцина в тканях [7, 8]. В нашем эксперименте введение в рацион крыс дополнительного количества витамина Е полностью восстанавливало содержание его в плазме крови и печени и на 35 % в мозгу по сравнению с животными второй группы.

Полученные нами результаты наглядно показывают существенные отличия роли витамина Е в тканях различных органов. А именно: в печени вклад этого витамина как антиокислителя выражен слабее, особенно на начальных этапах ПОЛ, возможно, вследствие высокой активности специфических ферментативных систем, что согласуется с данными литературы [2]. В ткани мозга больше заметна функция α-токоферола именно как антиокислителя, поскольку известно, что особой

чувствительностью к Е-авитаминозу отличаются ткани с низкой активностью цикла пентоз, в частности нервная [3].

Анализ полученных результатов позволяет утверждать, что составом диеты можно эффективно влиять на адекватность окислительных и антиокислительных процессов. Причем достижение динамического равновесия между субстратами ПОЛ, продуктами ПОЛ и антиокислителями обнаруживает тканевую специфичность. В мозгу это равновесие восстанавливается медленнее, вероятно, вследствие ограниченной проницаемости гематоэнцефалического барьера для веществ различной природы и, в частности, для различных стереоизомеров витамина Е [11]. Полученные факты необходимо учитывать при компенсаторной витаминотерапии ряда заболеваний, для которых характерно усиление ПОЛ, а также при назначении специальных диет.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой динамичности процессов накопления продуктов ПОЛ при варьировании в рационе питания содержания витамина Е и НЖК. Витамин Е способствует вовлечению в обменные процессы конечных продуктов ПОЛ — липопигментов, которые не выводятся из организма, а обычно откладываются в клетках в виде гранул липофусцина и носят название пигментов старения. Эффективность модуляции ПОЛ витамином Е более выражена в мозгу, однако восстановление количества витамина Е после алиментарного дефицита происходит медленнее, чем в плазме крови и печени. Полученные результаты имеют важное значение для изучения физиологических механизмов регуляции антиокислительного равновесия у животных в норме и при различных патологических процессах, сопровождающихся усилением ПОЛ.

A. V. Paranich, L. A. Chaikina

INFLUENCE OF ALIMENTARY FACTORS ON THE FORMATION OF PRIMARY AND FINAL PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION

In blood plasma, liver, and brain of pubertal female Wistar line rats the level of diene conjugates, fluorescent lipopigments and vitamin E were studied as a function of different diets: control, fish and fish with addition of vitamin E. The obtained results show that in the brain tissue the role of vitamin E as an antioxidant is more pronounced, but dynamical equilibrium between the oxidation substrates and antioxidants after alimentary deficiency of vitamin E is restored in the nervous tissue more slowly than in the liver and blood plasma. In the organism of young animals fluorescent pigments are not accumulated in form of inert products, but behave as normal metabolites.

A. M. Gorky University, Ministry of Higher and Secondary Special Education of the Ukrainian SSR, Kharkov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безуглый Ю. В., Карелина В. И., Стороженко Л. В., Воскресенская Л. К. Морфологические и биохимические исследования показателей СРО и его ингибирования у животных // Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии (Материалы симпозиума по витаминам антиоксидантного действия). — М.: Наука, 1981. — С. 37—39.
2. Бурлакова Е. Б., Аристархова С. А., Храпова Н. Г. Антиоксидантная функция токоферола и возможность его замены синтетическими ингибиторами. Витамины // Биохимия витамина Е и селена. — Киев: Наук. думка, 1975. Вып. 8. — С. 30—36.
3. Воскресенский О. Н. Биоантиоксиданты и перекисное окисление липидов. Витамины — антиоксиданты и системность биологического ингибирования ПОЛ биополимеров // Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. — М.: Наука, 1981. — С. 6—9.
4. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33—36.
5. Лемешко В. В., Калиман П. А., Никитченко Ю. В. Возрастные особенности перекисного окисления липидов в печени крыс // Докл. АН УССР. Сер. Б. — 1981. — № 2. — С. 81—83.

6. Лемешко В. В., Никитченко Ю. В. Содержание гидроперекисей липидов в сердце и печени крыс разного возраста // Укр. биохим. журн.—1986.— 58, № 6.— С. 22—27.
7. Обухова Л. К. Свободнорадикальные механизмы старения в биологической эволюции // Итоги науки и техники. Общие проблемы биологии.— М.: ВИНТИ, 1986.— Т. 5.— С. 36—68.
8. Обухова Л. К., Эмануэль Н. М. Молекулярные механизмы замедления старения антиоксидантами // Там же, 1984.— Т. 4.— С. 44—81.
9. Паранич А. В., Солошенко Э. Н. Определение витамина Е в сыворотке крови больных лекарственной болезнью // Лаб. дело, 1987.— № 9.— С. 682—685.
10. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика.— Минск: Высшая школа, 1973.— 352 с.
11. Спиричев В. Б., Матусис И. И., Бронштейн Л. М. Витамин Е. // Экспериментальная витаминология.— Минск: Наука и техника, 1979.— С. 18—57.
12. Blaauwboer A. J., Novak L., Hooghwinkler G. J. M. Organic solvent soluble lipofuscin pigment in brain tissues of mice fed large amounts of polyunsaturated fats in presence and absence of various antioxidants // Internat. J. Vit. Nutr. Res.— 1979.— 49.— P. 294—305.
13. Fletcher B. L., Dillard C. J., Tappel A. L. Free radical in biology // Anal. Biochem.— 1973.— 52, N 1.— P. 1—9.
14. Herbert K. E., Wills E. D. Platelet function and tissue lipid peroxidation in rats fed polyunsaturated fatty acids // 621st Meet. London, 17—19 Dec., 1986 // Biochem. Soc. Abstr.— London.— 1986.— P. 100.
15. Innis S. M., Clandinin M. T. Dynamic modulation of mitochondrial inner membrane lipid in rat heart by dietary fat // Biochem. J.— 1981.— 193, N 1.— P. 155—176.
16. Islam M. S., Nessa A. Cell biology of aging. 111 Malondialdehyde as an index of free radical reactions in the early senescent mutants of *Neurospora crassa* and study of the effect of free radical scavengers on malondialdehyde contents // Cell Biol. Int. Rep.— 1984.— 8, N 5.— P. 217—220.
17. Kruk P., Enesco H. α -tocopherol reduces fluorescent age pigment in heart and brain of young mice // Experientia.— 1981.— 37, N 12.— P. 1301—1302.
18. Manohar M., Balasubramanian K. A. Antioxidant enzymes in rat gastrointestinal tract // Indian J. Biochem. and Biophys.— 1986.— 23, N 5.— P. 274—278.
19. Spector A. A., Burns C. P. Biological and therapeutic potential of membrane lipid modification in tumors // Cancer Res.— 1987.— 47, N 7.— P. 4529—4537.
20. Sundboom J., Olson J. A. Effect of aging on the storage and catabolism of vitamin A in mice // Exp. Gerontology.— 1984.— 19, N 4.— P. 257—265.
21. Tappel A. L. Protection against free radical lipid peroxidation reactions // Pharmacological Intervention Aging Process.— New York, 1978.— P. 111—131.
22. Yang N. Y., Desai I. D. Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamins in rats // J. Nutr.— 1977.— 107, N 8.— P. 1418—1426.

Харьков. ун-т им. А. М. Горького
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил
в редакцию 25.05.90

УДК 612.11+612.014

В. П. Мищенко, И. П. Кайдашев, А. В. Катрушов,
Ю. И. Силенко, О. И. Цевржинский

Влияние нейтрофильных лейкоцитов на состояние липидной пероксидации в эритроцитах и его физиологическое значение

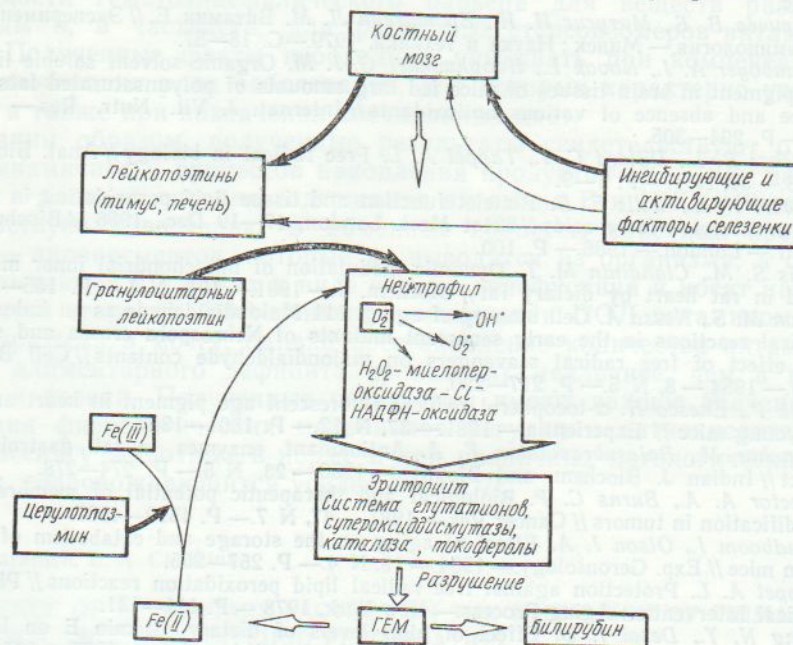
В настоящее время остается много неясного в механизмах разрушения стареющего эритроцита. Известно, что мало измененные эритроциты разрушаются в селезенке, а значительно измененные и нагруженные антителами — в печени. Однако спленэктомия не удлиняет жизни эритроцитов. Остается неясным, изменение каких компонентов клетки имеет значение для их разрушения.

Во многих работах по изучению качественного состава красной крови после спленэктомии отмечается его изменение и значительное увеличение числа нейтрофилов на 10-е сутки после операции [3].

© В. П. МИЩЕНКО, И. П. КАЙДАШЕВ, А. В. КАТРУШОВ, Ю. И. СИЛЕНКО,
О. И. ЦЕВРЖИНСКИЙ, 1990.

Именно это наблюдение привело к мысли, что увеличение числа нейтрофилов является частью регуляторной системы организма, направленной на элиминацию стареющих эритроцитов. Возможно, этот процесс происходит и в физиологических условиях, а в условиях удаленной селезенки он становится более выраженным.

Указанное предположение заставляет решить несколько следующих основных вопросов: «Как удаление селезенки влияет на пролиферацию и дифференцировку клеток — предшественников нейтрофилов? Какие механизмы лежат в основе узнавания стареющего эритроцита нейтро-



Нейтрофильный гранулоцитоз после спленэктомии крыс (тонкая стрелка — ингибирующее действие, толстая стрелка — активирующее действие).

филами? Какие существуют механизмы повреждения эритроцитов и где они происходят?»

По данным Fliedner и Lajtha и соавт. [19, 24], среднее время дифференцировки от миелобласта до зрелого нейтрофила составляет 8—10 сут. При изучении депрессии кроветворения установлено, что на пролиферацию нейтрофильных гранулоцитов влияют гуморальные стимуляторы и ингибиторы гранулоцитопоэза по принципу обратной связи (простагландины Е, интерферон, колонийстимулирующие и колонийингибирующие факторы, кейлоны), необходимые для поддержания гомеостаза в тканях. В то же время в селезенке, по предположению многих авторов [18], образуется ряд факторов инактивирующих или задерживающих образование лейкопоэтинов. Таким образом, удаление селезенки вызывает нейтрофильный гранулоцитоз (рисунок).

Любая гипотеза о механизмах рекогносцировки нейтрофилов должна объяснять, каким образом клетка воспринимает определенный спектр раздражителей, отличая их от других объектов окружающей среды. В настоящее время механизмы реакций нейтрофила гипотетичны [14]. В основу «узнавания» нейтрофилами стареющих эритроцитов можно положить изменения гидрофильности, электростатические и лиганд-рецепторные взаимодействия.

На полимеризацию мембранных компонентов и изменение при этом гидрофильности при старении эритроцитов указал Sushil [13]. По данным Невмятуллина, активность нейтрофилов также плотно коррелирует с гидрофобностью штаммов стафилококков. В опытах с бактериями и другими объектами, обработанными полиэлектролитами, сня-

тие негативного заряда усиливало связывание и поглощение [4]. В то же время известно, что при старении эритроцитов снижается дзета-потенциал. На первый план выдвигаются реакции, основанные на специфической рецепции [14]. Эритроциты и нейтрофилы имеют общие рецепторы. Одна из особенностей нейтрофилов — способность при стимуляции образовывать мощные оксиданты; их функциональная перестройка развивается очень быстро. Гранулоцитарный колонийстимулирующий фактор способен «запускать» так называемую дыхательную вспышку в нейтрофилах [15]. Согласно гипотезе, именно эти метаболиты тканевого дыхания нейтрофила способны вызвать повреждение старых эритроцитов. На возможность повреждения эритроцитов, индуцированного перекислением липидов микросом печени, указали Mupig и соавт. [16]. Известно, что эритроцит имеет мощную систему защиты от H_2O_2 , $OH^\cdot$, $O_2^\cdot$, перекисных радикалов липидов и гидроперекисей липидов, включающую супероксиддисмутазу (СОД), каталазу, систему глутатиона, токоферолы и т. д. [17]. Особенно показательно, что с увеличением возраста эритроцитов падает активность СОД от 100 % до 60 % [11]. Таким образом, нейтрофил оказывает повреждающее влияние на эритроцит, в основе которого лежат «дыхательная вспышка» и выделение мощных оксидантов. После этого происходит выход в кровоток гема и геминового железа $Fe(II)$, что в свою очередь ингибирует чрезмерную активность нейтрофила, так как $Fe(II)$ оказывает токсическое влияние и связывается с мембраной нейтрофильного гранулоцита [12]. Вероятно, при этом важную роль играет церулоплазмин.

С целью подтверждения некоторых теоретических выводов нами был проведен ряд экспериментальных исследований.

Методика

Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар после предварительной спленэктомии, кроликах-самцах породы шиншилла и донорской крови А(II)-группы. В пробах крови определяли спонтанный гемолиз эритроцитов [9], содержание в них малонового диальдегида (МДА) [6] и ацилгидроперекисей липидов (АГП) [2], активность СОД [5] и каталазы [1]. Одновременно определяли фагоцитарную активность [10] нейтрофилов и их способность восстанавливать нитросиний тетразолий (НСТ) [7]. Результаты обработаны статистически [8].

Результаты и их обсуждение

В первой серии опытов на кроликах было проведено изучение корреляции указанных параметров в физиологических условиях. Как видно из табл. 1, отмечается значительная положительная корреляция активности нейтрофилов, спонтанного гемолиза и накопления АГП в мембранах эритроцитов.

Таблица 1. Парная корреляция показателей активности нейтрофилов и показателей перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов у кроликов

Показатель корреляционной пары	Фагоцитарный индекс	НСТ-тест (индекс)	Число нейтрофилов	Содержание ацилгидроперекисей липидов	Активность	
					СОД	каталазы
Спонтанный гемолиз	0,98**	0,80*	—0,33	0,95**	—0,69	0,29
Активность ферментов:						
каталазы	—0,25	—0,029	—0,26	0,4	0,28	
СОД	—0,58	—0,3	0,45	—0,67		
Содержание ацилгидроперекисей липидов	0,92**	0,77**	—0,49			
Число нейтрофилов	—0,27	—0,33				
НСТ-тест	0,9**					

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

В исследованиях на донорской крови *in vitro* мы изучили влияние активации нейтрофилов введением продигозана (30 мкг/кг) на процессы ПОЛ в эритроцитах. Стимуляция нейтрофила вызывала достоверное увеличение фагоцитарной активности и способности восстанавливать НСТ (табл. 2). Вслед за этим увеличивался спонтанный гемолиз, накапливался МДА в мембранах эритроцитов, снижалась активность СОД и каталазы.

Таблица 2. Изменение активности нейтрофилов и липидной пероксидации донорской крови при стимуляции нейтрофилов продигозаном

Проба крови	Спонтанный гемолиз, %	Концентрация МДА, ммоль/л	Содержание в крови		НСТ-тест	Фагоцитарный индекс, %
			СОД, ЕД	каталазы, ЕД		
Контрольная проба	2,59±0,46*	3,73±0,11	2,73±0,3	2,62±0,21	0,74±0,034	21,2±1,1
Активированная продигозаном проба	4,34±0,55*	5,43±0,11**	1,76±0,11*	1,59±0,25**	0,96±0,023**	30,2±1,22**

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Таблица 3. Показатели липидной пероксидации эритроцитов и активности нейтрофилов после спленэктомии у крыс

Группа животных	НСТ-тест (индекс)	Спонтанный гемолиз, %	Каталаза, ЕД	СОД, ЕД	МДА, % прироста
Ложнооперированные животные	0,58±0,04	6,72±0,31	0,76±0,08	1,55±0,2	145,6±6,0
Спленэктомия	1,02±0,05**	8,66±0,45**	0,63±0,07*	1,34±0,18**	195,5±7,9**

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Особый интерес для нас представляло изучение указанных показателей у крыс после спленэктомии. Кровь для исследования забирали на 10-е сутки после операции. При этом отмечали резкое увеличение показателей НСТ-теста, усиление спонтанного гемолиза. Увеличивалось ПОЛ в мембранах эритроцитов: накапливался МДА, снижалось содержание защитных ферментов (табл. 3).

Анализируя экспериментальные данные, можно заметить, что активация нейтрофилов во всех случаях приводит к липидной пероксидации в мембранах эритроцитов и снижению устойчивости мембран. Это явление наблюдается и в физиологических условиях. Таким образом, обобщая вышеизложенное, можно предположить, что взаимодействие: «нейтрофил — эритроцит» играет важную роль в повреждении и разрушении стареющих эритроцитов в физиологических условиях и наиболее ярко выражено при удалении селезенки.

V. P. Mishchenko, I. P. Kaidashev, A. V. Katrushov, Yu. I. Silenko, O. I. Tsebrzhinsky

INFLUENCE OF NEUTROPHILS ON CONDITION OF LIPID PEROXIDATION IN ERYTHROCYTES AND ITS PHYSIOLOGICAL ASPECTS

Theoretical grounds of the existence (in the organism) of physiological process of the neutrophil granulocyte-erythrocyte interaction are presented. This process underlies damage and destruction of old erythrocytes. A conclusion is made concerning the peroxide mechanism of this interaction.

This process possibly takes place under physiological conditions and becomes more pronounced after splenectomy.

Medical Stomatological Institute,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Poltava

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Архипова О. Г. Методы исследования в профпатологии.— М.: Медицина.— 1988.— С. 156—157.
2. Архипова О. Г. Методы исследования в профпатологии.— Там же.— С. 144—157.
3. Аскерханов Р. П., Сафаров Р. Ю. Об изменении свертываемости крови при патологии селезенки // Вест. хирургии им. Грекова.— 1972.— 108, № 4.— С. 65—71.
4. Белоцкий С. М., Диковская Е. С., Петухов В. Г. Люминолзависимая хемилюминесценция первичного очага при различных заражающих дозах *St. aureus* // ЖМЭИ.— 1987.— № 3.— С. 53—55.
5. Брусков О. С., Герасимов А. Н., Панченко Л. Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1976.— № 1.— С. 33.
6. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М.: Наука, 1972.— 250 с.
7. Нагоев Б. С. Модификация цитохимического метода восстановления нитросинего тетразолия // Лаб. дело.— 1983.— № 8.— С. 7—11.
8. Румишинский И. З. Математическая обработка результатов эксперимента.— М.: Наука, 1971.— С. 25—41.
9. Спиричев В. Б., Матусис И. И., Бронштейн Л. М. Экспериментальная витаминология.— Минск: Наука и техника, 1979.— С. 18—57.
10. Фримель Г. Иммунологические методы.— М.: Медицина, 1987.— С. 381—386.
11. Bartosz, Tanner Ch., Fried R., Leyko W. Superoxide dismutase activity decreases during erythrocyte aging // Experientia.— 1978.— 34, N 11.— P. 1464.
12. Hoepelman I. M., Jaarsma E. Y., Verhoef J., Marx Joannes I. Effect of iron on polymorphonuclear granulocyte phagocytic capacity: role of oxidation state and effect of ascorbic acid // Brit. J. Haematol.— 1988.— 70, N 4.— P. 495—500.
13. Jain Sushil K., Hochtein P. Polymerization of membrane components in ageing red blood cells // Biochem. and Biophys. Res. Commun.— 1980.— 92, N 1.— P. 247—254.
14. Klebanoff S. J., Clark R. X. The neutrophil: function and clinical disorders.— Amsterdam: North Holland Publ. Co., 1978.— P. 313.
15. Nathan Carl F. Respiratory burst in adherent human neutrophils: triggering by colony-stimulating factor CSF-GM and CSF-G // Blood.— 1989.— 73, N 1.— P. 301—306.
16. Resh-Zman Munir, Willis Roger J., Recknagel Richard O. Red cell damage induced by peroxidized microsomes: the relationship between hemolytic activity and peroxide content // J. Environ. Sci. and Health.— 1978.— 13, N 1.— P. 81—95.
17. Srivastava Satish K., Lal Anjana K., Ansari Nassem H. Defense system of red blood cells against oxidative damage // Red blood cells and Metabolism.— New York etc. 1980.— P. 123—127.
18. Steinberg B., Cheng F. H. F., Martin R. A. Research of leucopoiesis // Acta haematol. (Basel), 1965.— 33.— P. 279.

Полтав. мед. стоматол. ин-т
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 20.02.90

УДК 591.1.15:577.612.39:612.6

Н. А. Бабенко, Л. М. Басанец, О. А. Ежова

Возрастные особенности изменения липидов легких, сердца и мозга белых крыс под влиянием диетических факторов

Систематические исследования влияния периодического, сдерживающего рост, питания показали, что содержание животных на качественно полноценной, но калорийно недостаточной диете, чередующейся с кратковременными подкормками, приводит к значительному продлению их жизни [3, 4]. Это сопровождается существенными сдвигами биохими-

© Н. А. БАБЕНКО, Л. М. БАСАНЕЦ, О. А. ЕЖОВА, 1990.

ческих и физиологических процессов в организме животных. Следует отметить, однако, что липидный обмен в данном плане изучен недостаточно. В ранее проверенных исследованиях установлено, что в постнатальный период онтогенеза происходят существенные изменения содержания липидов и их отдельных классов в ткани печени, тонкой кишке, жировой ткани и в сыворотке в крови [2, 4]. Применяемая в наших экспериментах низкокалорийная, но полноценная по составу компонентов диета в ткани подавляющего большинства изученных органов приводит к нивелированию возрастных изменений липидного состава клеток и в целом оказывает нормализующее влияние на липидный обмен у старых крыс. Ввиду этого целью нашего исследования явилось изучение возрастных особенностей липидного состава ткани легких, сердца и мозга крыс в норме и под действием сдерживающего роста питания.

Методика

Эксперименты проводили на белых крысах-самцах линии Вистар 3-(половозрелые), 12-(стареющие) и 24-месячного (старые) возраста, находившихся на стандартном пищевом рационе вивария (контрольная группа) и содержащихся, начиная с 1-месячного возраста, на полноценной по составу, но низкокалорийной диете (подопытные животные). Калорийность рациона изменяли на протяжении всей жизни животного, оставляя ее в пределах 20—30 % калорийности пищи контрольных крыс, с целью достижения постоянной скорости роста (10 г/100 сут) [6]. Число животных в каждой возрастной группе 7—12. Липиды из гомогената тканей легких, сердца и больших полушарий головного мозга экстрагировали согласно методу Folch и соавт. [8], разделение липидов на отдельные фракции и их количественное определение проводили согласно методам, описанным ранее [1].

Результаты и их обсуждение

Исследованиями, проведенными на половозрелых, стареющих и старых животных, установлено, что в течение 3—12 мес постнатального периода онтогенеза содержание фосфолипидов в легких увеличивается, а холестерина — снижается. В дальнейшем, вплоть до 24-месячного возраста, происходит повышение содержания эфиров холестерина. Содержание фосфолипидов в ткани возвращается до его значений у половозрелых крыс 3-месячного возраста (таблица).

Изучение липидного состава гомогенатов больших полушарий головного мозга позволило установить, что по мере старения организма наблюдается некоторое снижение относительного количества фосфолипидов и повышение — жирных кислот. Содержание липидов других изученных классов практически не изменяется в постнатальный период онтогенеза. Полученные результаты в основном согласуются с данными, полученными другими исследователями [5], показавшими, что возрастное снижение относительного количества фосфолипидов и изменение их спектра в старости являются результатом изменившегося метаболизма липидов в субклеточных структурах мозга (см. таблицу).

Наиболее глубокие модификации липидного состава клеток в постнатальный период онтогенеза выявлены в ткани сердечной мышцы (см. таблицу). Так, установлено, что относительное количество изученных липидов, стабильное в течение 3—12 мес постнатального периода онтогенеза, резко изменяется к старости. Содержание фосфолипидов в ткани сердца 24-месячных крыс по сравнению с их содержанием в ткани мозга более молодых животных почти в 2 раза ниже, а холестерина, жирных кислот и триацилглицеринов — выше. Снижение в тканях мозга и сердца к старости относительного количества фосфолипидов при одновременном повышении относительного количества жирных кислот позволяет предположить, что в постнатальный период онтогенеза в этих тканях происходит активация фосфолипаз типа А. В пользу этого пред-

Влияние низкокалорийной диеты на липиды тканей некоторых органов у крыс разного возраста, % общих липидов

Липиды	Контрольные крысы		
	3 мес	12 мес	24 мес
Фосфолипиды:			
головного мозга	55,7±2,51	52,7±2,3	48,5±2,38
легких	42,5±2,3	50,2±1,8*	40,5±3,8**
сердца	47,3±4,4	35,0±4,0	21,3±4,0***
Холестерин:			
головного мозга	27,3±1,33	28,7±1,5	28,9±1,9
легких	20,5±0,8	12,3±1,3*	14,8±0,9***
сердца	15,8±1,5	19,9±2,8	26,9±1,0**
Эфиры холестерина:			
головного мозга	6,21±0,55	4,93±0,31	6,23±0,68
легких	9,05±0,74	9,11±0,58	13,0±1,5***
сердца	—	—	—
Жирные кислоты:			
головного мозга	3,63±0,18	7,16±0,67*	7,56±0,72***
легких	11,6±1,24	13,1±0,7	12,2±1,3
сердца	19,9±1,5	17,0±2,0	26,2±3,1
Триацилглицерин:			
головного мозга	4,23±0,32	5,38±0,37*	3,73±0,33**
легких	13,7±1,1	12,2±1,2	13,4±1,3
сердца	16,3±1,9	23,3±2,8	25,7±1,8***
Липиды	Подопытные крысы		
	3 мес	12 мес	24 мес
Фосфолипиды:			
головного мозга	52,7±2,38	58,5±1,2	43,4±4,1
легких	44,6±1,4	44,0±1,9****	44,8±2,9
сердца	43,8±0,9	35,0±4,0	53,9±17****
Холестерин:			
головного мозга	29,7±1,13	27,2±0,4	29,5±0,7
легких	18,9±1,3	18,9±1,6****	18,9±1,9****
сердца	16,5±1,9	20,5±1,6	27,9±0,4
Эфиры холестерина:			
головного мозга	5,03±0,71	3,87±0,27****	8,39±0,06
легких	9,24±0,58	10,6±0,7	18,8±1,4****
сердца	—	—	—
Жирные кислоты:			
головного мозга	7,42±0,48****	5,95±0,72	7,84±0,08
легких	10,3±1,5	11,7±0,4	11,4±0,9
сердца	14,9±2,4	18,1±1,6	19,2±2,3
Триацилглицерин:			
головного мозга	5,39±0,67	3,06±0,27****	7,19±0,97***
легких	17,2±2,2	12,1±1,7	11,1±0,9
сердца	18,4±1,8	18,5±2,7	22,0±3,4

* $P < 0,05$ (контроль 3—12 мес), ** $P < 0,05$ (контроль 12—24 мес), *** $P < 0,02$ (контроль 3—24 мес), **** $P < 0,05$ (контроль—опыт).

положения свидетельствуют аналогичные данные, полученные на аутопсийном материале сердечной мышцы человека [9]. Авторы обнаружили, что фракция жирных кислот клеток старых людей, в отличие от таковой молодых, в основном представлена полиеновыми (арахидоновой и докозогексаеновой) жирными кислотами. Известно [7], что эти жирные кислоты появляются в клеточном ядре в результате активации фосфолипидов A_2 и усиления гидролиза мембранных фосфолипидов. Ввиду этого можно полагать, что активация фосфолипаз A в старости является одной из причин изменения липидного спектра в клетках тканей головного мозга и сердца.

Содержание животных на низкокалорийной диете сопровождается снижением в ткани легких у крыс 12-месячного возраста, по сравнению с содержанием животных на нормальном рационе, относительного количества фосфолипидов и повышением — холестерина. В результате диетического воздействия у животных 24-месячного возраста отмечено повышение относительного количества холестерина и его эфиров. В целом применяемая диета сглаживает возрастные различия липидного состава в клетках изученных тканей. Диета практически не вызвала изменений состава и содержания отдельных липидов в клетках сердечной мышцы животных 3- и 12-месячного возрастов, однако способствовала почти двукратному повышению количества фосфолипидов у старых 24-месячных подопытных крыс. Следует отметить также, что количество жирных кислот в ткани сердца остается неизменным у подопытных животных всех изучавшихся возрастных групп. Практически не изменяется под действием диеты количество отдельных липидов в ткани больших полушарий головного мозга у крыс разного возраста. Исключение составляют триацилглицерины, относительное количество которых у подопытных крыс 12-месячного возраста несколько ниже, чем у контрольных животных.

Таким образом, изучение липидного состава тканей легкого, миокарда и головного мозга (больших полушарий) у крыс разного возраста, находящихся на стандартном пищевом рационе вивария, позволяет выявить существенные возрастные и тканевые различия. Наиболее глубокие изменения за исследуемые периоды онтогенеза претерпевают липиды сердечной мышцы и легких. Применяемая в наших экспериментах диета практически не оказывает влияния на липиды в тканях молодых, 3-месячных, крыс. В тканях легких и мозга изменения (под действием диетических факторов) количества отдельных липидов характерны для животных 12-месячного возраста, в то время как в ткани миокарда диета влияет только на количество фосфолипидов у старых крыс. Однако несмотря на существенные особенности действия низкокалорийной диеты на липидный спектр в тканях изученных органов экспериментальное воздействие сглаживает в целом возрастные различия количества липидов в них. Полученные результаты определенного нормализующего влияния периодического, сдерживающего рост, питания на липидный состав в тканях различных органов у старых животных (см. таблицу) [2, 4] свидетельствуют о глубоком воздействии диетических факторов на липидный обмен организма и перспективности дальнейших исследований метаболических последствий длительного содержания животных на полноценной по составу, но низкокалорийной диете.

N. A. Babenko, L. M. Basanets, O. A. Ezhova

AGE PECULIARITIES OF CHANGES IN LUNG, HEART AND BRAIN LIPIDS OF ALBINO RATS UNDER THE EFFECT OF DIETARY FACTORS

It has been studied how long-term periodical calory-insufficient and growth-restraining nutrition of the Wistar albino rats influences the lipid metabolism. It is shown that diet has a marked effect on the levels of phospholipids, cholesterol, neutral lipids, fatty acids in different tissues. The lipid composition in aged rats with prolonged life is closer to that of young animals of the control group.

A. M. Gorky University,
Ministry of Higher and Secondary Special Education
of the Ukrainian SSR, Kharkov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бабенко Н. А.* Направленное изменение жирнокислотного спектра липидов ядерных структур и функциональное состояние клеточного генома // Укр. биохим. журн. — 1986. — 58, № 3. — С. 40—47.

2. Бабенко Н. А., Попова Л. Я. Экспериментальное продление жизни и липидный обмен // XV съезд Всесоюз. физиол. о-ва.— Ленинград: Наука, 1987.— Т. 2.— С. 551—552.
3. Никитин В. Н. Периодическое калорийно-недостаточное питание и процессы онтогенеза // Журн. общ. биологии.— 1961.— 22, № 2.— С. 81—88.
4. Никитин В. Н., Бабенко Н. А., Басанец Л. М. Липиды печени белых крыс разного возраста в норме и при периодической калорийно-недостаточной диете // Вест. ХГУ.— Харьков: Виш. шк., 1988.— № 313.— С. 3—5.
5. Никитин В. Н., Бабенко Н. А. Липиды и липидный обмен в онтогенезе // Усп. совр. биологии.— 1987.— 104, вып. 3 (6).— С. 331—345.
6. Никитин В. Н., Клименко А. И., Маковоз Р. К. Биохимические и эндокринные изменения при экспериментальном продлении жизни // Там же.— 1984.— 98, вып. 3 (6).— С. 464—479.
7. Руководство по физиологии. Биология старения / Фролькис В. В., Аршавский И. А., Аринчин Н. И. // Л.: Наука, 1982.— 566 с.
8. Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biochem.— 1957.— 226.— P. 497—509.
9. Gudbjarnason S., Hallgrimsson J. Cardiac lipids and ischemic tolerance // Proc. internat. sympos.— New York.— 1979.— P. 213—224.

Науч.-исслед. ин-т биологии Харьков. ун-та
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил
в редакцию 02.10.89

УДК 612.661;612.616. (+591.147.8.+591.463.12)519.24

Л. А. Иванова, А. Г. Карташев

Динамика сперматогенеза у белых мышей различных возрастных групп

Дифференциация возраста на периоды с учетом функционального состояния репродуктивной системы принята в качестве основного критерия в онтофизиологии. Однако динамика сперматогенеза с учетом возраста изучена недостаточно, что отрицательно сказывается на разработке теоретических представлений о взаимосвязи показателей сперматогенеза в период постнатального развития животных [1, 4].

Поэтому целью нашей работы был качественный и количественный анализ гистоморфологических показателей сперматогенеза у самцов белых мышей в постнатальный период их развития.

Методика

Объектом исследования служили половые железы беспородных белых мышей-самцов различных возрастных групп. Животные находились в экспериментальном помещении в клетках из оргстекла с момента рождения. До перехода на стандартный рацион содержались с матерью и вскармливались молоком. Семенники для исследований забирали у мышей в возрасте 2, 3, 4, 5, 6, 15, 20, 25, 30, 35, 55, 95, 175, 335, 455 сут после быстрой декапитации животных, фиксировали в жидкости Буэна и заливали в парафин [7]. Для оценки генеративной и инкреторной функций семенников использовали морфометрический анализ, позволяющий выявлять колебания морфофункциональной активности [11]. На срезах толщиной 4—5 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином [7], с помощью окуляр-микрометра измеряли диаметр 100 извитых канальцев, поперечное сечение которых представляло собой окружность и ширину просвета.

Количественный анализ сперматогенного эпителия проводили по методике Fogg и Cowing [16]. В каждом препарате исследовали 20 поперечных срезов канальцев приблизительно одинакового диаметра, находившихся на различных стадиях. При этом определяли среднее число клеток (сперматогонии типа А, сперматогонии типа В, сперматоциты на стадии лептотены и пахитены, сперматиды и сперматозоиды, а также клетки Сертоли). Кроме того, определяли индекс сперматогенеза, для чего пласт герминативных клеток делили на четыре слоя: 1-й — сперматогонии, 2-й — сперматоциты, 3-й —

© Л. А. ИВАНОВА, А. Г. КАРТАШЕВ, 1990.

сперматиды, 4-й — сперматозоиды. Подсчет производили в 100 срезах канальцев, определяя в каждом из них сохранность слоев зародышевых клеток по 4-балльной системе. Индекс сперматогенеза вычисляли по формуле

$$I = \frac{\sum a}{N},$$

где a — число слоев зародышевых клеток, обнаруженных в каждом канальце; N — число канальцев.

Для определения инкреторной активности семенников в 20 случайных полях зрения подсчитывали число эндокриноцитов (ув. 400) и соотношение различных морфофункциональных типов клеток Лейдига. В эндокриноцитах определяли диаметр их ядер с последующим разделением клеток на три типа: малые, средние и большие. Подсчитывали число канальцев со слущенным эпителием и выражали в процентах общего числа канальцев. На каждую возрастную точку приходилось 5—8 животных. Всего в эксперименте использовали 118 белых мышей.

Для сравнительного анализа разнородных статистических показателей использовали стандартизацию с целью их представления в виде безразмерных величин методом расчета нормированного отклонения для каждого из показателей за весь период наблюдений [2]. Объединенные по всей системе сперматогенеза стандартизированные признаки для каждого возрастного состояния представлены графически в виде так называемых профилей состояния (см. рис. 2), где по оси абсцисс отложены номера показателей, по оси ординат — значения их нормированных отклонений. Мету сходства последовательных профилей возрастного состояния системы оценивали по значению коэффициента линейной корреляции Пирсона (r). В случае недостоверности, т. е. когда наблюдается нелинейная перестройка структуры показателей, данный интервал отмечался в качестве переходного этапа сперматогенеза. С целью выделения групп сопряженности возрастных зависимостей использовали кластерный анализ [5]. Календарный возраст — линейная зависимость между абсолютным возрастом животных и динамикой исследуемых показателей. Мету линейной зависимости от календарного возраста для каждого показателя оценивали коэффициентом линейной корреляции (R^2) нормированных значений исследуемых показателей и значений абсолютного возраста животных. Возрастное состояние животных — линейная и нелинейная зависимости показателей от возрастного состояния животного, оцениваемого на основании вклада возрастной дисперсии в дисперсию среднего каждого из исследуемых показателей. Сила влияния фактора (времени) — мера влияния исследуемого фактора, оцениваемая на основании дисперсионного факторного анализа, определяет вклад в данном случае возрастной вариации в общем варьировании показателя [6].

Результаты и их обсуждение

В таблице приведены полученные в результате эксперимента среднестатистические значения возрастных показателей развития половых желез белых мышей ($M \pm m$) и рассчитанные значения следующих статистических показателей: силы влияния фактора времени (η^2) и квадрата коэффициента линейной корреляции значений исследуемых показателей со значениями календарного возраста (r^2). Анализ η^2 и r^2 позволяет заметить, что практически все исследуемые показатели сперматогенеза зависят от возраста, за исключением доли крупных клеток Лейдига. В то время как линейная зависимость от календарного возраста характерна лишь для 50 % показателей сперматогенеза, в частности для диаметра семенного канальца, индекса сперматогенеза, числа сперматоцитов I порядка на стадии пахитены, сперматогоний и сперматозоидов, доли крупных клеток Лейдига, канальцев со сперматозоидами и со слущенным эпителием. Последующий кластерный анализ исследуемых показателей позволил выделить 4 группы взаимосвязанных в онтогенезе возрастных состояний (рис. 1).

К первой группе, включающей в себя 80 % всех показателей, относятся процессы, связанные непосредственно со сперматогенезом. Для половой системы с ранних этапов онтогенеза характерна перестройка. Если у человека и ряда млекопитающих (крыса, кролик) [3] так называемый статический период достаточно продолжителен, то у мышей он

продолжается первые 6 сут и характеризуется отсутствием просвета в канальцах, небольшими размерами последних, клетки располагаются в один слой и представлены небольшим числом сперматогоний и опорных элементов. В возрасте 15 сут в канальцах появляется истинный просвет и происходит увеличение числа слоев герминативного эпителия, обусловленное пролиферацией клеток Сертоли [13]. Начиная с 15-х суток наблюдается интенсивный рост половых желез, осуществляющийся за счет роста канальцев в ширину и длину, усиления их извитости. В генеративном эпителии происходит деление сперматогоний, переход

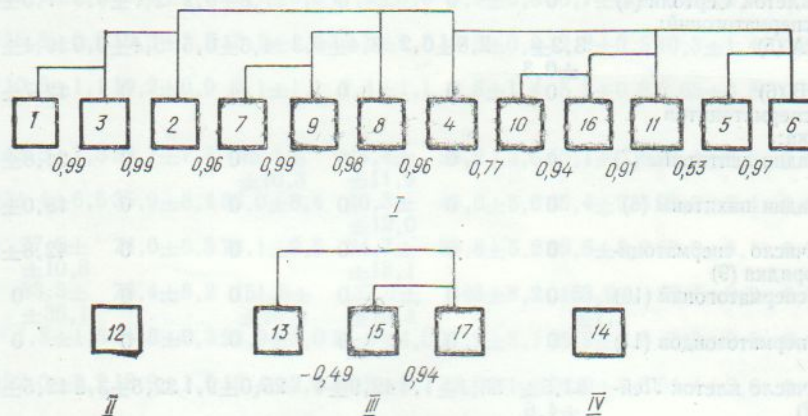


Рис. 1. Кластеризация показателей (номер — внутри квадрата) системы сперматогенеза белых мышей:

I, II, III, IV — выделенные группы взаимосвязанных показателей. Цифры внизу между квадратами — значения коэффициента корреляции, оценивающего меру сопряжения показателей.

части их в стадию роста с последующим формированием сперматозитов I порядка. Эти процессы совпадали во времени с переходом животных от грудного вскармливания на обычное питание. По мнению ряда авторов [4, 9], этот период ответственен за становление всей репродуктивной системы.

В возрасте 30—35 сут в семенных канальцах наблюдаются заметные изменения клеток Сертоли: происходят увеличение размеров ядра, изменение его формы и расположения. Параллельно отмечается интенсивный рост канальцев, осуществляющийся за счет увеличения числа клеток и их размеров, нарастает число сперматозитов I порядка на всех стадиях мейоза, а также сперматид на различных стадиях созревания, в некоторых канальцах появляются единичные сперматозоиды. Становление сперматогенеза у мышей происходит по достижении возраста не более 55 сут. В этот возрастной период устанавливается типичная картина расположения клеток сперматогенного эпителия, т. е. обнаруживаются все клетки герминативного эпителия на различных стадиях сперматогенеза, так что можно обнаружить 14—16 стадий цикла по Oakberg [15]. В этот период в большинстве канальцев (свыше 80 %) сперматогенез развивается до конечных своих форм, отмечается высокая функциональная активность клеток Сертоли. Аналогичная картина строения зрелого семенника сохраняется до 335 сут, т. е. до начала инволюции, первыми признаками которой является снижение числа сперматогоний, сперматозитов и сперматид.

В отличие от I группы, отражающей состояние генеративной системы, поведение групп II, III и IV характеризует эндокринную ситуацию семенника. Так, во II совокупности отражена динамика клеток Лейдига, находящаяся в противофазе с показателями сперматогенеза. При этом, как отмечалось и у других млекопитающих [4, 10], у мышей установлено наличие фетального цикла клеток Лейдига, который сокращен до 5 сут, а затем отмечается вторичная активация элементов эндокринной системы (15 сут абсолютного возраста), представленной

Динамика морфологических показателей развития семенников у белых мышей разных возрастов

Показатель (номер)	M±mt						
	2-е сутки развития	3-е сутки развития	4-е сутки развития	5-е сутки развития	6-е сутки развития	15-е сутки развития	20-е сутки развития
Диаметр семенного канальца (1), мкм	45,1±1,8	43,3±0,6	49,4±2,0	51,5±1,9	52,2±4,0	85,9±6,4	102,8±6,3
Ширина просвета семенного канальца (2), мкм	0	0	0	0	0	19,1±2,9	39,1±10
Индекс сперматогенеза (3)	1	1	1	1	1	2±0	2,2±0,2
Число клеток Сертоли (4)	0	0	0	1,8±0,2	2,7±0,3	7,5±0,4	7,2±0,8
Число сперматогоний:							
типа А (5)	3,2±0,3	2,8±0,2	3,4±0,3	4,6±0,5	5,1±0,6	19,1±1,4	18,8±1,9
типа В (6)	0	0	0	4	0	12,7±1,1	10,7±1,8
Число сперматоцитов I порядка:							
на стадии лептотены (7)	0	0	0	0	0	24,8±4,8	21,1±3,3
на стадии пахитены (8)	0	0	0	0	0	18,0±5,2	30,3±4,1
Общее число сперматоцитов I порядка (9)	0	0	0	0	0	42,8±2,5	51,4±5,0
Число сперматогоний (10)	0	0	0	0	0	0	4,0±5,2
Число сперматозоидов (11)	0	0	0	0	0	0	0
Общее число клеток Лейдига (12)	83,5±4,6	56,1±1,3	42,9±4	25,0±9,1	32,5±3,8	12,5±2,9	10,3±1,5
Доля разных типов клеток Лейдига, % общего числа:							
малых (13)	54±14,5	58,3±7,0	28,3±10,2	50,9±17,9	28,3±12,1	45,4±33,7	54,7±18,2
средних (14)	46±14,5	41,7±7,0	71,7±10,2	49,1±17,8	71,4±12,5	54,6±33,7	44,9±18,5
крупных (15)	0	0	0	0	0,3±0,7	0	0,4±1,0
Доля канальцев, % общего их числа:							
со сперматозоидами (16)	0	0	0	0	0	0	0
со слущенным эпителием (17)	0	0	0	0	0	0	0

Примечание. М—среднее арифметическое; mt—доверительный интервал при $P \leq 0,05$; η^2 —на достоверность значений при $P \leq 0,05$.

дифференцированными клеточными элементами малых форм, являющихся малоактивными [3, 9]. К 20-м суткам абсолютного возраста число эндокриноцитов возрастает, параллельно наблюдается их активация, т. е. увеличивается число клеток средних размеров [3]. Начиная с этого периода, клетки Лейдига в интерстиции семенников обнаруживаются всегда.

Немаловажное значение имеет и соотношение различных типов эндокриноцитов. Показано, что динамика содержания крупных клеток Лейдига коррелирует с развивающимися деструктивными сдвигами в семенниках, в частности с долей канальцев, имеющих слущенный эпителий, а последний показатель отрицательно коррелирует с числом малых эндокриноцитов. Следует отметить, что с возрастом увеличивается число канальцев со слущенным эпителием и число неактивных форм эндокриноцитов. Активация клеток Лейдига средних размеров начинается, по результатам наших исследований, с 15-суточного возраста, что несколько предшествует начальным этапам роста и развития половых желез. Содержание этих элементов с возрастом остается преобладающим над остальными типами эндокриноцитов и только с началом периода инволюции резко снижается.

ных групп

M ± mt								η²	r²
25-е сутки развития	30-е сутки развития	35-е сутки развития	55-е сутки развития	95-е сутки развития	175-е сутки развития	335-е сутки развития	455-е сутки развития		
121,8± ±17,9	145,4± ±6,4	150,3± ±6,6	182,6± ±7,9	164,8±17	177,0± ±9,6	162,4± ±13,0	160,3± ±6,9	0,98*	0,32*
46,7±3,6	48,1±5,7	61,6±4,2	77,4±6,5	67,1± ±11,9	70,5± ±10,4	66,2±6,5	51,5±4,5	0,95*	0,25
2,5±0,4	3,0±0,1	3,3±0,2	3,8±0,1	3,7±0,2	3,6±0,2	3,7±0,2	3,4±0,7	0,95*	0,41*
8,2±0,8	9,6±0,4	10,5±0,5	11,1±0,6	11,2±0,5	9,9±0,8	10,7±0,8	9,2±0,8	0,98*	0,21
18,8±1,4	16,8±0,6	19,3±1,5	17,1±1,4	15,8±1,8	12,5±0,8	12,8±0,5	10,3±1,4	0,99*	0,001
8,5±1,0	10,6±1,1	10,2±0,9	9,1±1,1	7,4±1,1	4,8±1,4	5,2±0,8	5,65±0,8	0,95*	0,004
26,2±4,9	43,5±7,3	38,1±7,4	45,1± ±10,3	44,4± ±11,9	50,2±3,6	50,1±3,8	23,4±6,6	0,89*	0,18
27,7±5,8	34,4±6,5	35,9±8,4	33,0±8,4	40,3± ±12,0	40,6±5,6	45,4±5,8	29,7±5,4	0,81*	0,27*
53,9±3,6	77,9± ±10,8	74,0±6,3	78,1±9,5	84,7± ±18,1	90,8±5,2	95,5±5,9	52,9±6,1	0,96*	0,22
33,7±3,2	83,3± ±36,1	78,4±8,2	151,6± ±10,8	137,7± ±10,4	148±8,2	163,9± ±7,1	89,1±9,9	0,94*	0,36*
4,4±8,2	1,3±1,6	4,8±0,3	23,9±3,0	16,8±4,0	17,9±6,1	25,9±8,8	7,3±2,3	0,89*	0,30*
13,7±2,8	22,0±3,2	18,9±1,5	15,4±2,0	19,2±5,7	22,0±1,8	20,9±3,8	24,4±2,6	0,97*	0,04
72,5±8,2	10,3±4,0	15,3±3,1	18,0±3,8	16,0±8,0	21,7±5,8	23,4± ±14,3	47,5±4,6	0,74	0,02
27,5±8,2	89,7±4,0	84,7±3,1	82,0±3,8	80,7±8,0	75,3±6,8	62,9± ±14,9	33,1±3,1	0,90*	0,03
0	0	0	0	3,3±2,8	3,0±1,8	13,7± ±12,2	19,4±2,3	0,71	0,96*
4,2±8,0	10,0± ±11,5	78,2± ±13,7	84,7±9,8	91,7±3,2	93,3±4,9	89,4±3,7	57,5±8,5	0,97*	0,34*
0	0	0	0	0,7±1	2,0±2,6	9,4±2,9	27,3±3,6	0,80*	0,85*

сила влияния фактора времени; r²—линейный коэффициент корреляции; звездочка указывает

С целью анализа состояния всей системы сперматогенеза в возрастном аспекте представлены профили состояния системы сперматогенеза в каждый анализируемый временной период (рис. 2). Анализ профилей состояния системы позволяет выделить стабильные и переходные периоды в динамике сперматогенеза у белых мышей. Так, для половой системы переходными этапами являются возрастные периоды, для которых коэффициент линейной корреляции между предыдущим и последующим состоянием перестает быть достоверным. Это 6—15-е, 25—30-е, 175—335—455-е сутки абсолютного возраста.

В каждом из переходных процессов можно выделить группы показателей, изменение которых нарушает структуру профиля. Первый переходной этап у мышей, соответствующий 6—15 сут (см. рис. 2), связан с изменениями, происходящими в извитых канальцах семенников в результате дифференцировки герминативного эпителия. Дифференцировка заканчивается на 25—30-е сутки, что отражено в изменении профиля в результате увеличения числа сперматид, находящихся на различных стадиях спермиогенеза, и появлении первых сперматозоидов в просветах канальцев. Кроме того, в эти сроки наблюдается активация эндокринной системы семенников. Эти результаты согласуются с дан-

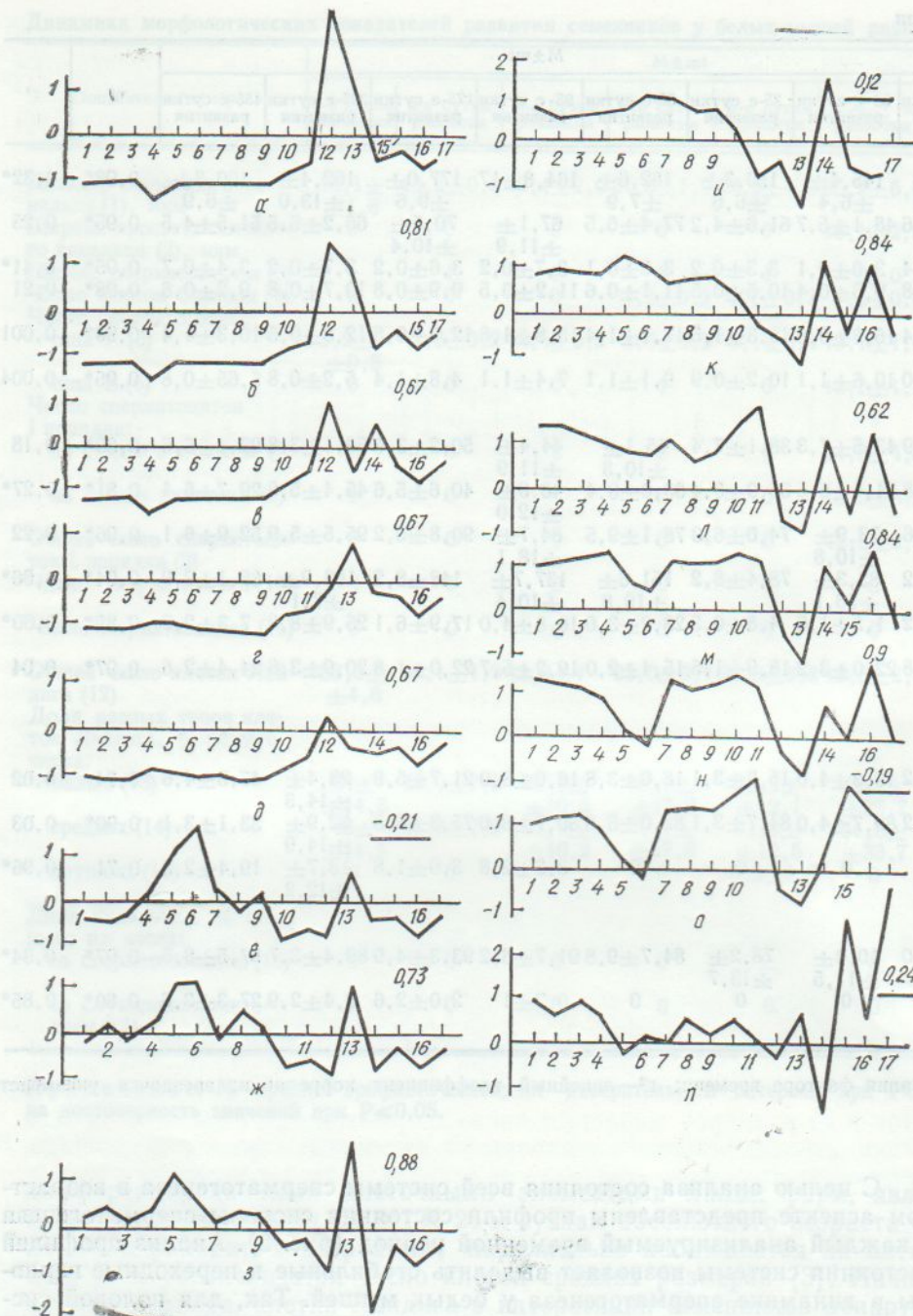


Рис. 2. Профиль состояния системы сперматогенеза в каждый анализируемый период времени:

а—д—2—6-е сутки; е—15-е сутки; ж—20-е сутки; з—25-е сутки; и—30-е сутки; к—35-е сутки; л—55-е сутки; м—95-е сутки; н—175-е сутки; о—335-е сутки; п—455-е сутки (ось абсцисс — номера показателей системы, ось ординат — значения нормированного отклонения; цифры между профилями — значения коэффициента линейной корреляции, подчеркнутые цифры — недостоверные значения).

ными, представленными другими исследователями [14, 15], показавшими, что дифференцировка клеток Лейдига, а следовательно, и усиление их функциональной активности у мышей происходит с 20-х по 45-е сутки жизни. За этот период выработка тестостерона увеличивается в 20 раз [14]. Ведущим компонентом, вызывающим изменения профиля в период от 175 до 335 сут, является перестройка эндокринной системы, связанная с перераспределением клеток Лейдига, т. е. изменением их

активности. Изменение профиля сперматогенеза на 455-е сутки связано со снижением значений всех показателей сперматогенеза, функций эндокринной системы и нарастанием деструктивных сдвигов.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что существует тесная взаимосвязь эндокринной и генеративной функции семенников. При этом происходит угнетение первой в начальные периоды постнатального развития с последующей активацией, начиная с 25-х суток. Параллельно наблюдается дифференциация сперматогенного эпителия. Выявлено наличие четырех переходных этапов, связанных с появлением в канальцах просвета и началом митотического деления (6—15-е сутки), активацией эндокринного аппарата семенников и появлением высокодифференцированных элементов сперматогенного эпителия (25—30-е сутки). Третий этап соответствует вторичному угасанию эндокринной функции семенника (175-е сутки), что предшествует общему угнетению процессов сперматогенеза — четвертый переходный этап (335—455-е сутки). В то же время показано, что всем изменениям в герминативном эпителии предшествуют сдвиги функциональной активности эндокринной системы.

Выводы

1. В основе постнатального развития сперматогенеза белых мышей лежит принцип синергического взаимодействия различных процессов, приводящий к синхронности стабильных и переходных этапов развития всей системы сперматогенеза белых мышей.

2. Показатели сперматогенеза у мышей в различные периоды распределяются на четыре группы взаимосвязанных показателей, вероятно, обусловленных специфическими механизмами регуляции.

L. A. Ivanova, A. G. Kartashev

DYNAMICS OF SPERMATOGENESIS IN WHITE MICE OF DIFFERENT AGE GROUPS

The age dynamics (beginning from the 2nd to the 455th days) of histomorphological indicators of testes in mongrel white mice in the process of postnatal development has been investigated. The age phases of spermatogenesis development in white mice and the transitional periods between them, which correspond to 6-15, 25-30, 175, 335 days are determined. An interrelation of spermatogenesis indicators during the postnatal development of white mice is described.

Institute of Biology and Biophysics of University,
Ministry of Higher and Secondary Special Education
of the RSFSR, Tomsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акулов В. К. Морфология эндокринного и семенного аппарата яичка в онтогенезе: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Душанбе, 1967.— 20 с.
2. Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ.— М.: Мир, 1982.— 488 с.
3. Бахшизян М. Э. Сравнительно-возрастные морфологические и гистохимические исследования семенников и их придатков у человека и некоторых млекопитающих: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Ереван, 1969.— 16 с.
4. Волкова О. В., Пекарский М. М. Эмбриогенез и возрастная гистология.— М.: Медицина, 1976.— 430 с.
5. Девис Д. Статистика и анализ геологических данных.— М.: Мир, 1977.— 430 с.
6. Лакин Г. Ф. Биометрия.— М.: Высш. шк., 1981.— 290 с.
7. Пирс Э. Гистохимия практическая и прикладная.— М.: Изд-во иностр. лит., 1962.— 942 с.
8. Портной А. С. Патогенетические механизмы аденомы и рака предстательной железы.— М.: Медицина, 1970.— 320 с.
9. Райцина С. С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции.— М.: Наука, 1985.— 208 с.

10. Рузен-Рунзе Э. Сперматогенез у животных.— М.: Мир, 1980.— 255 с.
11. Ухов Ю. И., Астраханцев А. Ф. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников // Арх. анат., гистол. и эмбриол.— 1983.— 84, № 3.— С. 66—72.
12. Chase David J. Payne Anita H. Changes in Leydig cell function during sexual maturation in the mouse // Biol. Rep.— 1983.— 29, N 5.— P. 1194—1200.
13. Kluin Ph. M., Kramer M. F., de Rooij D. G. Proliferation of spermatogonia and Sertoli cells in maturing mice // Anat. and Embriol.— 1984.— 169, N 1.— P. 73—78.
14. Leblond C. Pand, Clermont J. Spermatogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the «periodic acid-fuchsin sulfurous acid» technique // Amer. J. Anat.— 1952.— 90, N 2, March.— P. 167—206.
15. Oakberg E. F. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium // Ibid.— 1956.— 99, N 3.— P. 507—519.
16. Fogg L. C., Cowing R. T. The changes in cell morphology and histochemistry of the testis following irradiation and their relation to other induced testicular changes // Cancer Res.— 1951.— 11, N 1.— P. 23—28.

Ин-т биологии и биофизики Том. ун-та
М-ва высш. и сред. спец. образования РСФСР

Материал поступил
в редакцию 03.05.89

УДК 612.015.348:547.262

Г. Х. Божко, В. С. Чурсина, П. В. Волошин, В. М. Кулабухов

Влияние этанола на синтез белков в тканях различных органов морских свинок

Хроническая алкоголизация оказывает неблагоприятное влияние на структуру и функцию практически всех тканей изучавшихся органов. Частота морфологических нарушений у больных алкоголизмом (АЛГ) колеблется от 30 % (почки) до 80 % (печень) [6]. Структурные изменения сопряжены с глубокой перестройкой метаболизма. Существенное место в патохимии этанольной интоксикации и АЛГ занимает раздел, посвященный изучению обмена белков в крови и тканях организма, однако данные о влиянии алкоголя на белковый обмен малочисленны по сравнению с данными о влиянии алкоголя на обмен углеводов и липидов [5]. Установлено, что хроническая алкоголизация приводит к уменьшению содержания альбуминов в сыворотке крови или снижению значения отношения концентрации альбуминов к концентрации глобулинов в ней [9]. Вместе с тем не известно, зависит ли это от изменения процессов высвобождения, секреции, синтеза или распада белков. Предполагается, что уменьшение содержания белков в крови вызывается угнетением их новообразования в ткани печени [2]. Однако отдельные этапы поражения печени алкоголем характеризуются накоплением белков [8]. Известно, например, что некоторые фракции сывороточных белков при хроническом действии этанола увеличиваются [4]. Целью нашей работы было исследование длительного влияния этанола на синтез растворимых тканевых белков.

Методика

Донорами крови и тканей служили 20 самцов морских свинок 7-, 8-месячного возраста массой 600 г. Половина из них в течение 3 мес ежедневно получала 30 %-ный раствор этанола (4 г/кг) интрагастрально. Контрольную группу составляли интактные животные, которые находились в условиях лабораторного вивария вместе с животными, подвергавшимися действию алкоголя, и получали одинаковый с ними в качественном и количественном отношении рацион.

Исследовали растворимые белки тканей мозга, печени, сердца, почек и надпочечников. Печень и сердце перфузировали, а другие ткани ополаскивали охлажденным физиологическим раствором, удаляли крупные сосуды и гомогенизировали в 19 объемах

© Г. Х. БОЖКО, В. С. ЧУРСИНА, П. В. ВОЛОШИН, В. М. КУЛАБУХОВ, 1990

0,9 %-ного раствора NaCl. Гомогенаты выдерживали в течение 20 мин при 4 °C для экстракции растворимых белков, после чего центрифугировали. Экстрагированные белки осаждали трихлоруксусной кислотой, тщательно промывали, растворяли в дистиллированной воде и определяли концентрацию белка с помощью модифицированного метода Лоури [11]; 25 мкл раствора белков использовали для электрофоретического их разделения. Электрофорез проводили в вертикальных пластинах полиакриламидного геля с линейным градиентом концентрации акриламида (2,5—10 %). Условия электрофореза и денситометрии подробно описаны нами ранее [3]. На основании определения количества белков в исследуемых образцах и вычисления по площади пиков денситограммы относительного распределения фракций рассчитывали массовую концентрацию белков.

Интенсивность синтеза белков определяли по включению меченых аминокислот. Для этого животным за 2 ч до начала исследования внутрибрюшинно вводили ^{14}C -белковый гидролизат хлореллы (1,85 МБк/100 г). Окрашенный гель разделяли на 9 зон в соответствии с расположением белковых фракций. Каждый образец помещали во флаконы для подсчета импульсов радиоактивной метки и растворяли в H_2O_2 . После растворения гелей добавляли диоксидный сцинтиллятор и регистрировали удельную радиоактивность, которую выражали числом импульсов радиоизлучения в минуту, испускаемого 1 мг меченого белка каждой фракции ($\text{имп} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$). Статистический анализ проводили с использованием критерия t Стьюдента.

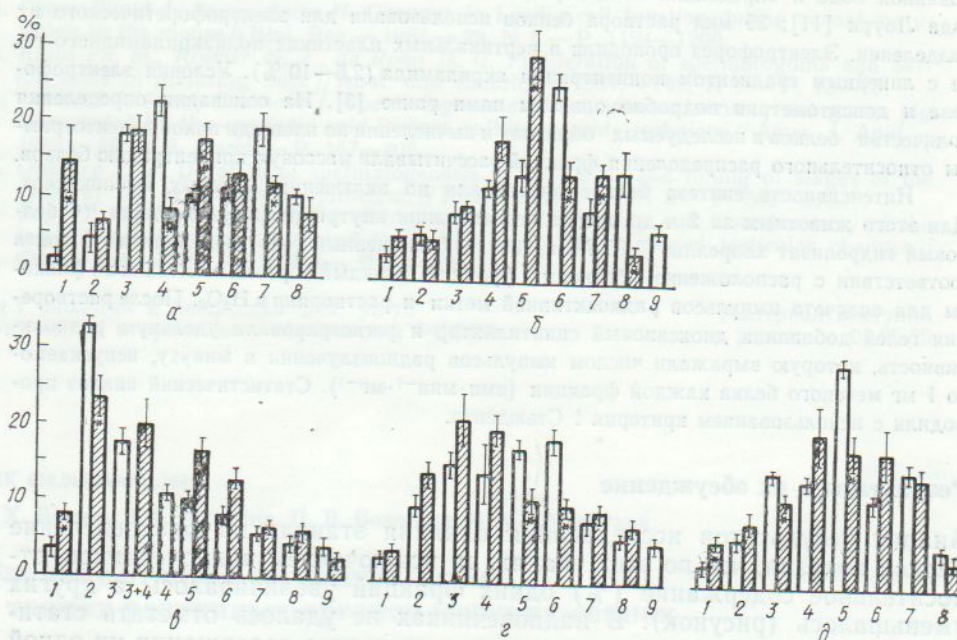
Результаты и их обсуждение

Анализ результатов исследования влияния этанола на распределение белков показал, что во всех тканях, за исключением надпочечников, относительное содержание (%) одних фракций увеличивалось, а других уменьшалось (рисунок). В надпочечниках не удалось отметить статистически достоверного увеличения относительного содержания ни одной из исследуемых фракций. Мозг, печень и почки характеризовались возрастанием доли высокомолекулярных белков, расположенных на электрофореграмме в стартовой зоне геля. В других тканях наблюдалось увеличение содержания более подвижных при электрофорезе фракций. Характерная особенность изменения содержания полипептидов состояла в том, что увеличение концентрации белков какой-либо зоны сопровождалось, как правило, уменьшением доли соседних или близко расположенных фракций. Этот факт дает основание предположить, что количественное перераспределение растворимых белков в тканях различных органов у животных под влиянием этанола обусловлено их агрегацией. В пользу этого предположения свидетельствует также отсутствие в сердце и надпочечниках опытной группы животных наиболее подвижных низкомолекулярных фракций. В печени действие этанола сопровождалось объединением фракций «3» и «4» в одну полосу электрофореграммы. Наиболее четкое перераспределение белков за счет уменьшения низкомолекулярных пептидов наблюдалось в сердце. Последняя фракция в белковом спектре отсутствовала, а предыдущая уменьшалась почти в 4 раза.

Данные литературы позволяют судить о том, что механизм агрегации может быть обусловлен несколькими причинами. Прежде всего следует отметить свойство этанола денатурировать белки, поскольку нарушение их макромолекулярной структуры неизбежно связано с процессами агрегации [16]. Известно, что длительная интоксикация этанолом сопровождается накоплением в тканях ацетальдегида. Этот продукт окисления этанола интенсивно модифицирует белки крови и тканей и вызывает образование крупных высокомолекулярных комплексов в результате межмолекулярных сшивок полипептидов [1, 2].

Действие этанола на количественные изменения суммарных белков тканей, а также индивидуальных полипептидов, неоднозначно и, согласно данным литературы, варьирует в широких пределах [2]. Такая вариабельность изменения содержания белков связана, по-видимому, с неспецифическими опосредованными эффектами этанола на многие этапы трансляции и транскрипции. Большое значение имеет то обстоятельство, что в условиях интоксикации этанолом наблюдается измене-

ние скорости катаболизма и секреции тканевых белков [8]. Полученные нами результаты показывают, что колебания количества белка в отдельных фракциях могут вызываться влиянием этанола на процессы агрегации.



Влияние этанола на изменение относительного содержания электрофоретических фракций белков (1—9) в тканях различных органов морских свинок:
а — мозг; б — сердце; в — надпочечники; г — почки (белые столбики — контроль, заштрихованные — опыт; звездочка внутри столбиков — статистически значимые изменения по сравнению с контролем).

Как видно из таблицы, эффект этанола заключается в снижении включения меченых аминокислот в белки тканей всех исследуемых органов. Суммарная удельная радиоактивность всех белковых фракций у опытной группы животных, выраженная в процентах контрольной,

Интенсивность синтеза белков в тканях разных органов морских свинок при длительном действии этанола (в белковых фракциях)

Условие эксперимента	Абсолютная удельная радиоактивность каждой из белковых фракций			
	1-й	2-й	3-й	4-й
Ткань мозга				
животных, не получавших этанол	82,0±30	69,3±14	23,0±4	6,3±0,1
животных, получавших этанол	5,2±1*	26,7±3*	5,3±2*	13,0±1*
Ткань печени				
животных, не получавших этанол	25,6±6	4,0±1	3,3±0,7	10,9±3
животных, получавших этанол	8,0±1*	2,8±1	4,4±1,3	4,4±1,3
Ткань сердца				
животных, не получавших этанол	3,6±2	36,9±8	18,8±3	12,9±3
животных, получавших этанол	12,0±2*	13,7±2*	7,9±2*	4,2±1*
Ткань почек				
животных, не получавших этанол	55,0±12	32,2±8	9,7±2	13,1±3
животных, получавших этанол	10,7±1*	7,4±2*	5,8±2	4,8±1*
Ткань надпочечников				
животных, не получавших этанол	31,9±7	7,5±1	6,4±1	7,8±2
животных, получавших этанол	8,8±2*	1,8±1*	1,5±1*	1,5±1*

Примечания: в статистическом показателе ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$) « $\bar{x}$ » — среднее арифметическое, « $\bar{Sx}$ » — среднее составляет 9; увеличение номера (1-я—9-я) электрофоретической фракции белков идет в направлении изменения.

колебалась от 51,2 % до 24,9 %. Наибольшее угнетение отмечалось в почках, что указывает на высокую чувствительность ткани этого органа к токсическому действию этанола. Статистически значимое уменьшение удельной радиоактивности наблюдалось в пяти из 8—9 регистрируемых фракций в тканях мозга, сердца, почек и надпочечников. Лишь одна из белковых фракций в мозгу и сердце характеризовалась увеличением синтеза белков. Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что (за редким исключением) длительное действие этанола приводит к угнетению новообразования фракций растворимых белков в тканях исследуемых органов.

Это заключение согласуется с данными о снижении синтеза альбумина и других растворимых белков в присутствии этанола в перфузируемой печени кроликов [10, 12]. Синтез белков в ткани сердца снижался на 15—20 % [15]. Особенно сильное ингибирующее действие этанола оказывал на слизистую оболочку желудка [13]. В ткани мозга эффект хронической алкоголизации находился в зависимости от дозы и времени введения этанола. В том случае, если животные получали 3 г/кг или больше этанола, синтез белков угнетался. Введение 1,2 г/кг этанола приводило к повышению включения меченых предшественников в белки мозга [14]. Синтез белков стимулировался через 1—2 нед ежедневного введения этанола, однако в последующем наблюдалось его снижение [15].

Получены данные, свидетельствующие о том, что в ядрах клеток печени при длительной интоксикации этанолом угнетается синтез белков хроматина (нерастворимых белков). По многим признакам результат действия этанола на хроматиновые белки подобен результату действия классических ингибиторов белкового синтеза [7]. При сравнении механизмов влияния этанола и циклогексимида на новообразование растворимых белков в ткани печени также обнаруживаются черты сходства [12]. Эти данные убедительно свидетельствуют в пользу того, что в отношении ткани печени этанол вполне можно рассматривать как типичный интегральный ингибитор белкового синтеза.

На основании результатов проведенной нами работы и данных литературы можно заключить, что механизмы патогенеза хронической этаноловой интоксикации и АЛГ могут включать количественное перераспределение растворимых белков и угнетение их синтеза в тканях

на организм животных этанола (по результатам измерения удельной радиоактивности

фракций в отдельности ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), $\times 10^{-3}$ имп·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹					Относительная удельная радио- активность всех белковых фракций в сумме, % конт- рольной
5-й	6-й	7-й	8-й	9-й	
16,9±4 5,4±1*	16,0±5 2,9±3	14,2±4 9,4±3	20,2±4 13,5±3	— —	32
8,9±3 5,7±1	28,5±5 6,8±2*	24,1±7 12,2±2	25,1±4 10,7±2*	22,4±7 27,7±7	51
15,2±4 4,2±1*	9,1±3 11,2±3	17,9±4 5,6±1*	13,0±6 —	37,5±13 —	36
5,4±2 4,7±1	13,7±4 3,0±1*	11,6±2 5,8±0,8*	28,3±9 —	— —	25
6,7±2 3,1±1	6,5±2 2,6±1	11,7±2 5,1±1*	18,5±5 10,5±1	15,5±3 —	31

± квадратичная ошибка среднего арифметического; среднее число проб в каждом контроле и опыте
* — от катода к аноду; звездочкой обозначено статистически значимое по сравнению с конт-

различных органов. Таким образом, хроническое действие этанола на ткани мозга, печени, почек и сердца вызывает перераспределение электрофоретических фракций растворимых белков, что, возможно, связано с их агрегацией; длительное введение этанола вызывает уменьшение суммарной удельной радиоактивности в пяти из 8-9 регистрируемых электрофоретических фракций растворимых белков в тканях исследуемых органов. Вместе с тем одна из всех белковых фракций, полученная из тканей мозга и сердца, характеризуется увеличением радиоактивности аминокислот.

G. Kh. Bozhko, V. S. Chursina, P. V. Voloshin, V. M. Kulabukhov

THE INFLUENCE OF ETHANOL ON SYNTHESIS OF PROTEINS IN TISSUES OF DIFFERENT ORGANS OF GUINEA PIGS

Long-term administration (for three months) of ethanol has been studied for its effect on the composition and synthesis of electrophoretic fractions of soluble proteins of the liver, brain, heart, kidneys and adrenals tissues in the guinea pigs. The obtained data permit supposing that the quantitative redistribution of the fractions under study as influenced by ethanol is due to their aggregation. Most of the studied tissues demonstrate a decrease in specific radioactivity of total proteins and 5 of 8-9 recorded electrophoretic fractions. Only one fraction in the heart and brain has been characterized by an increase of the protein synthesis level. The authors' results and data from literature make it possible to conclude that while analyzing pathogenesis of the chronic intoxication by ethanol and alcoholism the quantitative redistribution of soluble proteins and suppression of their synthesis in various tissues should be taken into account.

V. P. Protopopov Research Institute of Neurology and Psychiatry,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kharkov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Божко Г. Х., Волошин П. В. Действие этанола на белки тканей и сыворотки крови в организме человека и животных // Успехи совр. биологии.— 1989.— 108, N 1 (4).— С. 52—65.
2. Божко Г. Х., Хоменко Е. И. Сравнение взаимодействия этанола и ацетальдегида с компонентами хроматина ядер клеток печени крыс // Вопр. мед. химии.— 1988.— 34, N 2.— С. 19—23.
3. Кулабухов В. М., Волошин П. В., Костюковская Л. С. Изменение белкового состава сыворотки крови при экспериментальной гиперхолестеринемии // Укр. биохим. журн.— 1987.— 59, N 2.— С. 27—33.
4. Кулабухов В. М., Волошин П. В., Божко Г. Х. Белки сыворотки крови при интоксикации этанолом и холестеринозе // Там же.— 1987.— 59, N 6.— С. 19—23.
5. Островский Ю. М., Сатановская В. И., Садовник М. Н. Биологический компонент в генезе алкоголизма.— Минск: Наука и техника.— 1986.— 324 с.
6. Серов В. В., Лебедев С. П. Клиническая морфология висцерального алкоголизма // Вестн. АМН СССР.— 1988.— № 3.— С. 48—53.
7. Хоменко Е. И., Божко Г. Х. Влияние этанола на синтез хроматиновых белков ядер клеток печени крыс // Укр. биохим. журн.— 1984.— 56, N 2.— С. 191—194.
8. Rusis L., Csabai G., Fodor M. Increase of alcohol dehydrogenase and protein content of liver following chronic ethanol administration // FEBS Lett.— 1985.— 183, N 1.— P. 143—144.
9. Dreux S., Labrouace F., Nalpas B. Proteines plasmatiques et complications hepaticque dans l'alcoholisme chronique // Ann. Biol. Clin.— 1985.— 43, N 4.— P. 628—629.
10. Lakshmanan M. R., Ezekiel M. Effect of chronic ethanol feeding upon the catabolism of protein and lipid moieties of chylomicrons and very low density lipoproteins in vivo and in the perfused heart system // Alcoholism.— 1985.— 9, N 4.— P. 327—331.
11. Miller G. L. Protein determination for large number of samples // Anal. Chem.— 1959.— 31, N 5.— P. 964—966.
12. Rothschild M. A., Oratz M., Schreiber S. S. The effect of ethanol and hyperosmotic perfusates on albumin synthesis and release // Hepatology.— 1986.— 6, N 6.— P. 1382—1385.
13. Spohn M., McColl I. Ethanol, its effect on the synthesis of proteins by guinea — pig gastric mucosa // Biochem. Pharmacol.— 1986.— 35, N 11.— P. 1909—1914.
14. Wallin B., Merland J., Fikke A. Combined effects of ethanol and pH-change on protein synthesis in isolated rat hepatocytes // Acta pharmacol. et toxicol.— 1981.— 49, N 2.— P. 134—140.

15. Ward L. C. Ethanol and protein and amino acid metabolism in heart // Int. J. Biochem.—1987.—19, N 10.—P. 887—897.
16. Wickramasinghe S. N., Cardner B., Barden G. Circulating cytotoxic protein generated after ethanol consumption: identification and mechanisms of reaction with cells // Lancet.—1987.—N 8551.—P. 122—126.

Харьков. науч.-исслед. ин-т неврологии
и психиатрии М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 15.12.89

УДК 612.112.93:612.112.94:616—006—092.4/9

В. В. Овсиенко, И. С. Никольский

Диссоциация мастолимфоцитарных розеток

Некоторые типы лимфоцитов при контакте с тучными клетками образуют *in vitro* мастолимфоцитарные розетки (МЛР) — ассоциации клеток, состоящие из тучной клетки, присоединившей три и более лимфоцитов [1, 5, 6]. Способность лимфо- и мастоцитов к контактному взаимодействию претерпевает изменения при активации и дифференцировке клеток, их злокачественной трансформации, а также при иммунологических реакциях и опухолевом процессе [2, 4, 7], что предполагает участие исследуемой формы взаимодействия масто- и лимфоцитов в функционировании системы иммунитета. Тем не менее, значение и характер указанных межклеточных контактов остаются неясными и требуют изучения.

В этой статье сообщается о необратимой диссоциации МЛР и факторах, влияющих на этот процесс.

Методика

Получение тучных клеток и лимфоцитов крыс, а также постановку реакции образования МЛР осуществляли по ранее описанной методике [3]. Клетки тимуса ($5 \cdot 10^6$) и тучные клетки ($5 \cdot 10^4$) смешивали в 1,0 мл среды 199, центрифугировали при 250 *g* в течение 5 мин, осадок ресуспендировали, подсчитывали число МЛР, которые затем инкубировали 1—2 ч при температуре либо 4 °С, либо 37 °С. При постановке реакции использовали только аутологичные клетки. Для каждой крысы определяли исходное число МЛР — относительное число (%) розеток, образованных мастоцитами ($5 \cdot 10^4$) и тимоцитами ($5 \cdot 10^6$) этого животного непосредственно после получения клеток и центрифугирования. Число находящихся в суспензии МЛР в одной и той же пробе через 1 и 2 ч инкубации оценивали по индексу, вычисляемому делением относительного числа (%) розеток, наблюдаемого в каждой пробе через определенный промежуток времени от начала инкубации, на относительное число (%) розеток, наблюдаемое до инкубации МЛР. Способность клеток к образованию МЛР после инкубации в указанных условиях определяли следующим образом. Через 2 ч инкубации клетки ресуспендировали, центрифугировали при 250 *g* в течение 5 мин, надосадочную жидкость отбирали и клетки вновь ресуспендировали в 1,0 мл среды 199, после чего производили подсчет МЛР.

Аналогичные манипуляции проводили с розетками, образованными лимфоцитами периферической крови человека и эритроцитами барана — Е-розетками, полученными по ранее описанной методике [8].

Результаты и их обсуждение

Число Е-розеток, находящихся в суспензии, после инкубации при 4 °С в течение 2 ч практически не изменялось, но после инкубации при 37 °С наблюдалась почти полная диссоциация розеток. При повторном осаж-

© В. В. ОВСИЕНКО, И. С. НИКОЛЬСКИЙ, 1990.

дении клеток центрифугированием и ресуспендировании число Е-розеток восстанавливалось до исходного. МЛР при температуре 4 °С также не диссоциировали, а через час инкубации и после повторного центрифугирования инкубированных в течение 2 ч клеток число МЛР увеличивалось (табл. 1). Так как при такой температуре активные процессы в клетках протекают очень медленно, можно предположить, что повышение способности к образованию МЛР в этих условиях обусловлено

Таблица 1. Результаты статистической обработки значений индекса реакции образования мастолимфоцитарных розеток (МЛР) при различных условиях инкубации

Статистический показатель	Исходное значение	Инкубация при 4 °С			Инкубация при 37 °С		
		1 ч	2 ч	2 ч, 250 g 5 мин	1 ч	2 ч	2 ч, 250 g 5 мин
M	1,00	1,20	0,92	1,90	0,39	0,15	0,39
±m	0	0,09	0,10	0,10	0,04	0,02	0,06
n		11	14	10	16	27	22
P ₁		—	<0,05	>0,2	<0,01	<0,001	<0,001
P ₂		—	>0,05	—	—	<0,05	—
P ₃		—	—	<0,01	—	—	<0,05
P ₄		—	—	—	<0,01	—	—
P ₅		—	—	—	—	<0,01	—
P ₆		—	—	—	—	—	<0,01

Таблица 2. Результаты статистической обработки значений индекса реакции образования мастолимфоцитарных розеток (МЛР) при добавлении к диссоциированным тучным клеткам и клеткам тимуса «свежих» масто- или тимоцитов

Статистический показатель	Исходное соотношение клеток								
	1:100				1:200			1:50	
	Инкубация				Инкубация			Инкубация	
	Без инкубации	1 ч при 37 °С	1 ч при 37 °С, 5 мин при 250 g	1 ч при 37 °С, 0,5 ч при 4 °С, 5 мин при 250 g	Без инкубации	1 ч при 37 °С	1 ч при 37 °С, «свежие» мастоциты, 5 мин при 250 g	Без инкубации	1 ч при 37 °С
M	1,00	0,35	0,35	0,54	1,42	0,56	0,90	0,96	0,22
±m	0	0,04	0,06	0,11	0,25	0,08	0,08	0,10	0,04
n	24	24	12	12	9	9	9	9	9
P ₁	—	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001	>0,2	>0,5	<0,001
P ₂	—	—	>0,05	>0,05	—	<0,01	<0,05	—	<0,01
P ₃	—	—	>0,05	—	—	—	<0,05	—	<0,01
P ₄	—	—	—	>0,05	—	—	<0,01	—	<0,01

повышением аффинности вследствие физико-химических изменений поверхностных структур. Инкубация МЛР при 37 °С сопровождалась значительным уменьшением их числа, более выраженным через 2 ч. Причем повторное центрифугирование и замена среды не приводили к восстановлению первоначального числа МЛР, как это происходило с Е-розетками. На основании этих данных МЛР можно подразделить на термолabile и термостабильные.

По-видимому, одной из причин диссоциации Е-розеток может быть индукция плазматической мембраны клеток при 37 °С. Однако привлечения одного этого фактора к объяснению диссоциации МЛР мало, так как охлаждение клеток до 4 °С с последующим центрифугированием не приводит к восстановлению числа МЛР (табл. 2).

Таким образом, так же как и Е-розетки, МЛР диссоциируют при 37 °С, однако, в отличие от Е-розеток, диссоциируют практически необратимо. Вероятно, это происходит в результате изменения рецепторных свойств поверхности клеток, входящих в состав МЛР. С целью выяснения вопроса о том, в какой мере сказанное касается масто- или лимфоцитов, был поставлен следующий опыт.

Реакцию образования МЛР проводили с тучными клетками ($5 \cdot 10^4$) и клетками тимуса ($5 \cdot 10^6$) при соотношении клеток 1 : 100. В параллельных пробах, используя вдвое меньшее число тучных клеток или тимоцитов, проводили реакцию образования МЛР (1 : 200 и 1 : 50 соответственно). Индекс реакции определяли отношением числа МЛР в различных пробах к числу розеток в исходных пробах при соотношении клеток 1 : 100. После диссоциации МЛР к суспензии клеток добавляли «свежие» либо тимоциты, либо мастоциты с тем, чтобы соотношение клеток стало 1 : 100. После этого клеточную суспензию центрифугировали и подсчитывали МЛР.

Таблица 3. Результаты статистической обработки значений индекса образования мастолимфоцитарных розеток (МЛР) клетками, обработанными различными образцами надосадочной жидкости (ОНЖ)

Статистический показатель	Исходное значение	Клетки, обработанные			
		средой 199	ОНЖ		
			тимоцитов	мастоцитов	МЛР
Тимоциты					
M	1,00	1,16	1,31	0,95	1,27
$\pm m$	0	0,13	0,68	0,08	0,09
n	10	10	10	10	10
P ₁	—	>0,1			
P ₂			>0,2	>0,1	>0,5
Мастоциты					
M	1,00	0,58	0,75	0,76	0,56
$\pm m$	0	0,07	0,14	0,13	0,07
n	12	11	12	11	10
P ₁	—	<0,001			
P ₂			>0,2	>0,2	>0,5
МЛР					
M	1,00	0,24	0,64	0,46	0,58
$\pm m$	0	0,03	0,10	0,11	0,07
n	12	12	10	10	10
P ₁	—	<0,001			
P ₂			<0,001	>0,05	<0,001

Как видно из результатов, представленных в табл. 2, добавление «свежих» тучных клеток приводило к восстановлению числа МЛР до наблюдаемого при реакции клеток в соотношении 1 : 100. Добавление «свежих» тимоцитов не сопровождалось восстановлением числа МЛР, но приводило к заметному его увеличению.

По-видимому, при диссоциации МЛР происходят изменения соответствующих комплементарных структур, обусловленные либо кэпингом с нарушением системы цитоскелета [9], либо шеддингом, либо их маскировкой вследствие процессов, изменяющих поверхность клеток. Причем утрата клетками способности формировать МЛР может быть обусловлена либо изменениями, происходящими с клетками при инкубации независимо от их контакта в МЛР, либо в результате активных процессов, протекающих в клетках после контактного взаимодействия. С целью выяснения этих вопросов был поставлен следующий опыт.

Мастоциты ($5 \cdot 10^4$), клетки тимуса ($5 \cdot 10^6$) или суспензию МЛР, образованных указанным числом клеток, инкубировали в 1 мл среды при 37 °С. После 2-часовой инкубации клетки центрифугировали при 400 g в течение 10 мин и отбирали образцы надосадочной жидкости (ОНЖ), которые использовали в последующих исследованиях.

Клетки тимуса (по $5 \cdot 10^6$) и мастоциты (по $5 \cdot 10^4$) помещали в пробирки, центрифугировали при 400 g в течение 10 мин, среду отбирали, после чего суспензию клеток инкубировали 1 ч при 37 °C в различных ОНЖ или в среде. После инкубации в пробирки с мастоцитами добавляли $5 \cdot 10^6$ клеток тимуса, а в пробирки с тимоцитами — $5 \cdot 10^4$ мастоцитов, центрифугировали 5 мин при 250 g подсчитывали МЛР. Также ОНЖ обрабатывали уже сформировавшиеся и ресуспендированные МЛР (табл. 3). Как видно из результатов, представленных в табл. 3, инкубация тимоцитов при 37 °C не оказывает влияния на их способность вступать в МЛР, в то время как инкубация мастоцитов приводит к значительному уменьшению числа образуемых ими розеток. По-видимому, сброс рецепторов с мастоцитов происходит и без их контакта с тимоцитами, однако в МЛР этот процесс протекает активнее, очевидно, в результате кэпинга, и число МЛР через 2 ч инкубации розеток достоверно ниже, чем число МЛР, образованных инкубированными при 37 °C мастоцитами ($0,24 \pm 0,03$ и $0,56 \pm 0,07$ соответственно, $P < 0,001$).

Обработка тимоцитов и мастоцитов ОНЖ существенно не изменяет их способности образовывать МЛР (см. табл. 3) и, таким образом, взаимного блока рецепторов не получается, может быть, вследствие малой концентрации рецепторов в ОНЖ. Однако при добавлении ОНЖ к сформировавшимся и ресуспендированным МЛР наблюдается заметное замедление диссоциации розеток, достоверное при использовании ОНЖ тимоцитов и МЛР, что, возможно, происходит из-за наличия в ОНЖ стабилизирующих мембрану веществ.

Таким образом, обнаружено, что при культивировании МЛР при 37 °C происходит их необратимая диссоциация, обусловленная потерей рецепторов плазматической мембраной главным образом тучных клеток и связанная с активными процессами, протекающими в клетках и усиливающимися после их контактного взаимодействия.

V. V. Ovsienko, I. S. Nikolsky

DISSOCIATION OF THE MASTOLYMPHOCYTE ROSETTES

It is established that incubation of the mast cells and lymphocytes in vitro in the medium 199 at 4 °C promotes spontaneous formation of mastolymphocyte rosettes. While incubating in medium 199 at 37 °C a considerable part of mastolymphocyte rosettes irreversibly dissociate in contrast to E-rosettes. Loss of ability to the formation of rosettes is due to the loss of the corresponding complementary structures mainly by the mast cells. The data are obtained which allow supposing participation in the process of dissociation of the shedding and capping phenomena induced by contact interaction of masto- and lymphocytes.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гюллинг Э. В., Никольский И. С., Дюговская Л. А. Мастолимфоцитарные розетки // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1978.— № 9.— С. 851—853.
2. Гюллинг Э. В., Никольский И. С., Дюговская Л. А. и др. Контактное взаимодействие масто- и лимфоцитов при онтогенетической, антигениндуцированной дифференцировке и злокачественной трансформации лимфоидных клеток // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1980.— № 5.— С. 584—585.
3. Никольский И. С., Гриневич Ю. А., Овсиенко В. В., Черненко О. Д. Факторы влияющие на реакцию образования мастолимфоцитарных розеток // Иммунология.— 1981.— № 5.— С. 90—92.
4. Никольский И. С., Черненко О. Д., Овсиенко В. В. и др. Угнетение интерферонообразования и эндокринной функции тимуса при канцерогенезе, индуцированном метилхолантроном, а также их стимуляция гуморальными факторами тимуса // Эксперим. онкология.— 1983.— № 5.— С. 49—52.
5. Никольский И. С., Маевская Л. П., Овсиенко В. В. Исследование способности клеток из различных лимфоидных образований к формированию мастолимфоцитарных розе-

- ток при экспериментальном канцерогенезе // Тез. докл. VII съезда онкологов УССР.— Киев, 1985.— С. 320—322.
6. Никольский И. С., Мазуренко В. А., Гриневич Ю. А. и др. Мастоцитаффинные лимфоциты как индикаторные клетки некоторых форм гемобластозов // Эксперим. онкология.— 1986.— 8, № 1.— С. 25—26.
 7. Шабалова Н. Н., Самовик С. А. Нейромедиаторы и тучные клетки в регуляции функции тимоцитов // Нейрогуморальная регуляция гомеостаза: Тез. докл. IV Всесоюз. симп. «Регуляция иммунного гомеостаза».— Л., 1986.— С. 124.
 8. Bach J. F. Evaluation of T-cells and Thymic Serum Factors in Man using the rosette technique // Transplant. Rev.— 1973.— 16.— P. 196—217.
 9. Pokorna Z., Viklicki V. A. Study on the conditions of antibody-induced redistribution of membrane antigens in lymphoid cells // Folia biol. (CSSR).— 1978.— 25, N 6.— P. 407—408.

Киев. науч.-исслед. ин-т онкологии
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 28.07.89

УДК 612.017+611.018+612.1+612.3

С. И. Павлович, И. Н. Алексеева

Изменение гистоструктуры функциональной активности иммунокомпетентных органов в условиях нарушенного воротного кровоснабжения печени

Нарушение воротного кровоснабжения печени, встречающееся при ряде заболеваний (флебосклерозе, опухолях, остром панкреатите, острой непроходимости кишечника и других болезнях, сопровождающихся тромбозом воротной вены), а также при наложении порто-кавального анастомоза, приводит к изменению структуры и функций печени [1—5]. Возникающая патология печени и застой лимфы могут привести к изменению общей иммунологической реактивности организма. Данных по этому вопросу в литературе крайне мало. В связи с этим целью нашей работы было изучение гистоструктуры печени и иммунокомпетентных органов (тимуса, селезенки, брыжеечных лимфоузлов), а также содержания плюрипотентных стволовых кроветворных клеток (ПСКК) в костном мозгу и антителообразующих клеток (АОК) в селезенке у мышей в условиях дозированного сужения воротной вены печени.

Методика

Исследования проведены на 357 мышах-самках линии СВА массой 18—20 г. Сужение воротной вены печени проводили под нембуталовым наркозом перевязкой вены с использованием мандренов различного диаметра и последующим их удалением. В первой серии опытов воротная вена была сужена в среднем на 45 %, во второй серии — на 58 %. В качестве контроля использовали интактных животных, а также ложнопериорванных, которым производили лапаротомию и подведение лигатуры под воротную вену. В различные сроки после операции (от 5 до 27 сут) животных забивали. Печень, тимус, селезенку и брыжеечные лимфоузлы фиксировали 10 %-ным нейтральным формалином. Исследуемый материал обрабатывали общегистологическими методами (окраска гематоксилином и эозином, по Ван Гизон), а также гистохимическими методами с целью выявления РНК, ДНК (по Браше, Фельгену), гликозаминогликанов (по Хейлу и Мак-Манусу), гликогена (по Шабадашу), липидов (по Гольдману). Проводили следующие гистоэнзимологические исследования: определение сукцинатдегидрогеназы (СДГ) по Нахласу, Валькеру и Зелигману, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) по Гессу, Скарпелли и Пирсу, кислой фосфатазы (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) по Гомори. Определяли также количество ПСКК в костном мозгу методом экзогенного колониеобразования [8] и содержание АОК в селезенке [7]. Результаты обрабатывали статистически с применением критерия *t* Стьюдента.

© С. И. ПАВЛОВИЧ, И. Н. АЛЕКСЕЕВА, 1990.

Результаты и их обсуждение

Морфогистохимическая картина печени после частичного сужения воротной вены зависела от сроков исследования после операции. На 5—7-е сутки не отмечалось существенных различий при частичной перевязке воротной вены и у ложнооперированных животных. Расширение и полнокровие сосудов, лимфогистиоцитарная инфильтрация, усиленные регенераторные процессы являлись отражением реакции организма на послеоперационную травму. Различия морфологических изменений стали отчетливо проявляться, начиная с 11—12-х суток исследования. В опытах с ложнооперированными животными на 11—12-е сутки в большей части препаратов значительных отклонений от гистоструктуры печени контрольных животных не наблюдалось, а к 16—17-м суткам гистоструктура печени у ложнооперированных животных полностью нормализовалась.

При дозированном сужении воротной вены на 45 % (1-я серия опытов) на 11—12-е сутки в печени наблюдалось неравномерное кровенаполнение, разрыхление стенок сосудов и набухание эндотелиоцитов как в перипортальных зонах, так и в периферических зонах печеночных ацинусов. Местами в препаратах обнаруживалась зернистая и вакуолярная дистрофия, отдельные гепатоциты были в состоянии некробиоза. Наиболее выраженные морфологические изменения в печени отмечались на 16—17-е сутки. Микроциркуляторные нарушения портальных зон (рис. 1, а) сопровождались дистрофическими изменениями эндотелиоцитов. Локусы некротически измененных гепатоцитов располагались в основном в периферических зонах печеночных ацинусов. Звездчатые ретикулоэндотелиоциты встречались реже, чем на 11—12-е сутки. Регенераторные процессы в печени были снижены. На 25—27-е сутки гистологические и гистохимические показатели в печени имели тенденцию к нормализации, однако не достигали показателей, регистрируемых у ложнооперированных животных.

При сужении воротной вены печени на 58 % (2-я серия опытов) гистоструктурные изменения на 11—12-е сутки были более выражены, чем в аналогичные сроки 1-й серии. Отмечались дисциркуляторные расстройства в виде венозного полнокровия с неравномерным расширением синусов и вокругсинусоидальных пространств. На фоне паренхиматозной дистрофии и значительного снижения содержания гликогена встречались гепатоциты с вакуолизированной цитоплазмой, признаками жирового перерождения и некробиозом (см. рис. 1, б). Регенераторные процессы были сниженными. К 16—17-м суткам выраженность морфологических проявлений нарастала. Дисциркуляторные расстройства наблюдались во всех звеньях отводящей системы и характеризовались полнокровием и расширением центральных и собирательных вен, очаговой десквамацией эндотелиоцитов. В центральных отделах некоторых долей отмечались дисконфлексация печеночных балок, мелкие очаги некроза, значительные лимфоцитарные инфильтраты. Число звездчатых ретикулоэндотелиоцитов было увеличенным. Показатели регенераторных процессов были наиболее низкими среди всех серий и сроков исследований. На 25—27-е сутки изменения гистоструктуры печени были менее выраженными по сравнению с максимальными нарушениями, которые регистрировались на 16—17-е сутки. Нарастали регенеративные процессы.

Динамика морфологических изменений печени после сужения воротной вены (постепенное нарастание дистрофических и деструктивных изменений до определенного максимума с последующим восстановлением гистоструктуры органа) обусловлена первоначальным нарушением кровоснабжения печени с дальнейшим компенсаторным расширением печеночной артерии, открытием предшествующих и прокладыванием новых коллатералей в портальной системе [6], в связи с чем в той или иной мере нормализуется структура и функции печени.

В условиях дозированного сужения воротной вены на фоне гистоструктурных изменений в печени отмечены нарушения и в иммунокомпе-

тентных органах. Так, при сужении воротной вены на 45 % на 11—12-е сутки в тимусе отмечалось изменение клеточного состава с увеличением числа малодифференцированных тимоцитов и появлением плазмоцитов. При этом повышалось содержание пиронинофильных и гипертрофированных ШИК-положительных клеток. Активность КФ и ЛДГ была увеличена при сравнении с активностью этих ферментов у ложнопериоперированных животных. В селезенке и лимфоузлах наблюдались изменения в тимуснезависимой зоне с образованием лимфобластов и в ти-

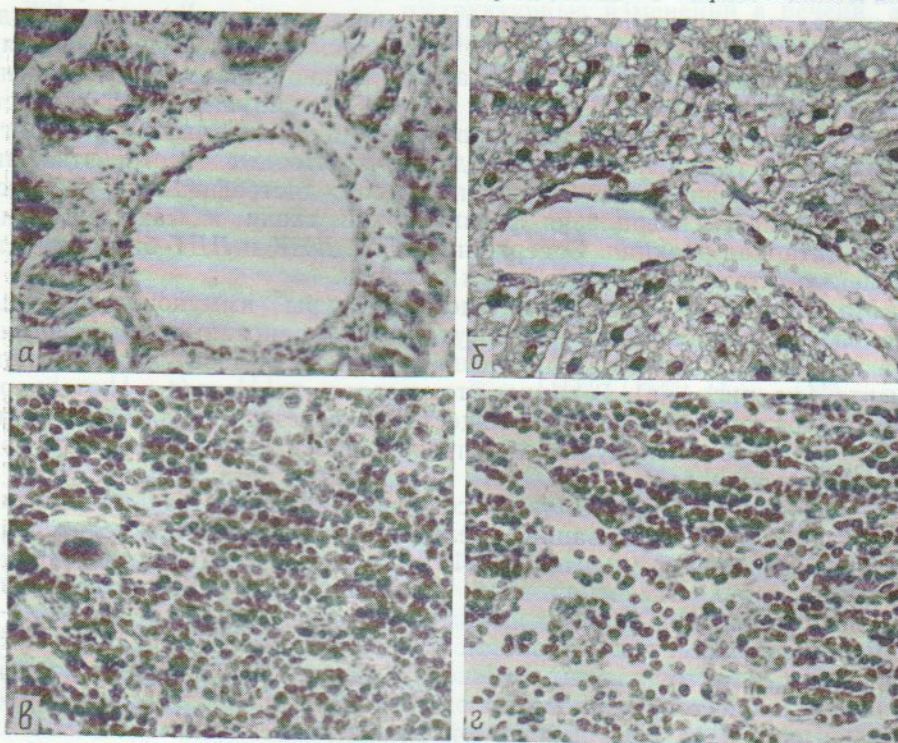


Рис. 1. Морфологические изменения в печени и иммунокомпетентных органах при дозированном сужении воротной вены печени:

а — отек ткани и выраженные периваскулярные отеки в портальной зоне печени на 17-е сутки после сужения воротной вены на 45 % (окраска гематоксилином и эозином; об. 20, ок. 10); *б* — дисциркуляторные расстройства на фоне крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов в периферической зоне печеночного ацинуса на 17-е сутки после сужения воротной вены на 58 % (окраска гематоксилином и эозином; об. 40, ок. 15); *в* — дистрофические и деструктивные изменения в ткани тимуса с увеличением относительного числа эпителиоретикулоцитов на 17-е сутки после сужения воротной вены на 58 % (окраска гематоксилином и эозином; об. 40, ок. 10); *г* — отек и делимфатизация селезенки на 17-е сутки после сужения воротной вены печени на 58 % (окраска гематоксилином и эозином; об. 40, ок. 10).

муснезависимой зоне с пролиферацией лимфоцитов, увеличением числа, макрофагов и плазмоцитов. Гистохимическое изучение показало очаговое увеличение содержания ЛДГ в Т-зависимых зонах и активности КФ. Наряду с этим четко обозначались очаги снижения активности СДГ и ЩФ. На 16—17-е сутки морфологические изменения в иммунокомпетентных органах, как и в печени, были наиболее выраженными. В тимусе отмечалось усиление митотической активности во внешней зоне коры, что подтверждалось повышенным содержанием ДНК и РНК, а также обнаруживалось увеличение числа малых тимоцитов, бластных форм и плазмоцитов. В периферических органах иммунитета наблюдались гиперплазия ретикулярной ткани, выраженная макрофагальная реакция и плазматизация тимуснезависимых зон.

Активация пролиферативных процессов выражалась повышением содержания РНК и ДНК, увеличением активности ЛДГ и КФ. Описанные морфологические изменения в органах иммунитета сохранялись до 20-х суток исследования, к 25—27-суткам шел постепенный спад интенсивности морфологических изменений во всех изучаемых органах.

При сужении воротной вены печени на 58 % нарушения гистострук-

туры иммунокомпетентных органов носили более выраженный характер. На 11—12-е сутки в тимусе клеточное соотношение изменялось в сторону уменьшения числа малых тимоцитов и увеличения — малодифференцированных. Усиливались дистрофические изменения лимфоцитов (появлялись клетки с перераспределенным ядерным хроматином, плохо окрашенной цитоплазмой). Относительное число эпителиоретикулоцитов возрастало. В мозговом веществе наблюдалось увеличение числа тимических телец с ШИК-положительными клетками внутри них. В дольках и междольковой соединительной ткани кровеносные сосуды были расширены, в отдельных отмечались явления стаза, периваскулярно — накопление кислых гликозаминогликанов. Изменялась активность гидролитических ферментов: наряду со снижением активности ЩФ активность КФ существенно возрастала. В селезенке и лимфатических узлах также наблюдались дисциркуляторные расстройства, выраженная активация тимуснезависимых зон, дистрофические процессы в обеих зонах, гиперплазия ретикулярной ткани и макрофагально-плазмоцитарная реакция. Содержание РНК, ДНК и ЛДГ было ниже по сравнению с таковым при 45 %-ном сужении.

Максимальные изменения гистоструктуры иммунокомпетентных органов отмечались на 16—17-е сутки. Вышеописанные морфологические изменения сопровождались еще и усилением деструктивного компонента (см. рис. 1, в). В тимусе это касалось тимоцитов и эпителиоретикулоцитов коры и мозгового вещества, в селезенке и лимфатических узлах — центров фолликулов, и сопровождалось выраженной макрофагальной реакцией (см. рис. 1, г). Гиперплазия ретикулярной ткани в селезенке и лимфатических узлах сопровождалась гистоэнзиматическими признаками ее активации: увеличением активности окислительно-восстановительных ферментов и КФ. К 25—27-м суткам интенсивность морфологических изменений шла на убыль, что соответствовало и уменьшению морфологических изменений в печени.

Таким образом, в иммунокомпетентных органах при наличии дистрофических и деструктивных изменений отмечалось развитие пролиферативных процессов, сопровождающихся гиперплазией ретикулярной ткани, выраженной макрофагальной реакцией и плазматизацией лимфоидных органов, свидетельствующих об интенсификации иммунных реакций, что параллельно сопровождалось активацией основных обменных реакций и изменением активности гидролитических ферментов.

Сужение воротной вены печени приводило также к изменению содержания общего числа костномозговых клеток в бедренной кости и числа ПСКК в ней (рис. 2). При этом меньшее сужение воротной вены (на 45 % — 1-я серия) мало меняло картину изменений в костном мозгу, вызванных ложной операцией. Значительно более выраженными эти изменения были при сужении воротной вены на 58 % (2-я серия опытов). На 11-е сутки число костномозговых клеток снизилось на 33 %. Содержание колониеобразующих единиц в селезенке (КОЕ_c), соответствующее числу ПСКК в костном мозгу, возросло на 78 % (сужение вены — $32,0 \pm 7,2$; ложная операция — $18,0 \pm 6,0$; $P < 0,05$). На 16-е сутки (в период максимальных изменений гистоструктуры печени) изменения в костном мозге носили противоположный характер. Число клеток в бедренной кости увеличивалось на 26 % ($P < 0,05$), содержание КОЕ_c снизилось на 55 % ($P < 0,005$). На 26-е сутки после перевязки воротной вены, когда повреждения печени уменьшилось, изменения в костном мозгу имели такую же направленность, как и в более ранние сроки (11-е сутки), но выражены были меньше.

Нарушение воротного кровоснабжения печени отразилось и на иммунном ответе организма на эритроциты барана по результатам определения содержания АОК в селезенке, а также на ее массе и на общем числе клеток в ней (рис. 3). На 11-е сутки после сужения воротной вены на 45 % существенно увеличилась масса селезенки (сужение вены — $222 \text{ мг} \pm 31 \text{ мг}$, ложная операция — $106 \text{ мг} \pm 9 \text{ мг}$; $P < 0,05$). Наблюдалась тенденция к увеличению числа клеток в ней: сужение вены —

(160 ± 16) $\cdot 10^6$, ложная операция — (104 ± 8) $\cdot 10^6$; $P > 0,05$. Значительно увеличивалось содержание АОК в расчете на селезенку (сужение вены — $47,755 \pm 12,874$, ложная операция — $19,137 \pm 5,446$; $P < 0,05$), наблюдалась тенденция к увеличению числа АОК в расчете на $1 \cdot 10^6$ клеток селезенки (сужение вены — 285 ± 125 , ложная операция — 252 ± 24 ;

$P > 0,05$). Содержание АОК в селезенке оставалось повышенным и на 16-е сутки — период наиболее выраженных гистоструктурных изменений в печени. Увеличенными были масса селезенки и число клеток в ней. На 26-е сутки, как на

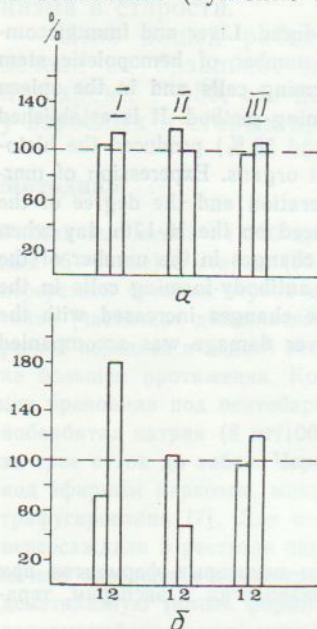
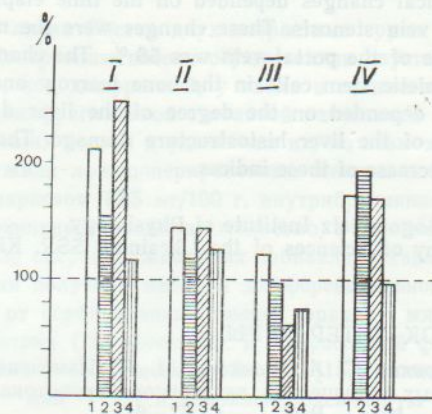


Рис. 2. Изменение общего числа костномозговых клеток (1) в бедренной кости и КОЕ₀ (2) у мышей после сужения воротной вены печени на 45 % (а) и на 58 % (б):

I — 11 сут, II — 16 сут, III — 26 сут после сужения. По вертикали — значения показателей, выраженные в процентах по отношению к ложнооперированным животным.

Рис. 3. Изменение массы селезенки (1), общего количества клеток (2) в ней и АОК в расчете на селезенку (3) и АОК в расчете на $1 \cdot 10^6$ клеток селезенки (4) после сужения воротной вены на 45 %:

I — 11 сут., II — 16 сут., III — 20 сут., IV — 22 сут после сужения. По вертикали — значения показателей, выраженные в процентах, по отношению к таковым у ложнооперированных животных.



11-е, при слабо выраженных гистоструктурных изменениях в печени отмечалось увеличение массы селезенки, общего числа клеток в ней и содержания АОК.

Таким образом, изменение содержания АОК в селезенке, так же как и изменения содержания ПСКК в костном мозгу, находится в зависимости от морфофункциональных изменений печени. При меньшем повреждении печени отмечалось увеличение содержания ПСКК и АОК, при большем — уменьшение. При принципиально сходном характере изменений в двух крайних звеньях иммунной реакции отмечаются и определенные различия. Существенные изменения содержания АОК в селезенке обнаруживаются при меньшем повреждении печени (при сужении воротной вены уже на 45 % ее диаметра), когда содержание ПСКК в костном мозгу еще не меняется. Различаются и сроки смены активации иммунной системы на ее угнетение. В костном мозгу эта инверсия наступает раньше, чем в селезенке. Изменение содержания ПСКК в костном мозгу при нарушении функций печени лишь в небольшой мере определяет изменение иммунного ответа в целом. К изменениям в костном мозгу присоединяются нарушения в других иммунокомпетентных органах (тимусе, селезенке, брыжеечных лимфоузлах), определяющие характер изменения различных звеньев иммунного ответа и его конечного звена.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что повреждение печени при нарушении ее воротного кровоснабжения приводит к морфологическим и функциональным изменениям в иммунокомпетентных органах.

S. I. Pavlovich, I. N. Alekseyeva

CHANGES IN THE HISTOSTRUCTURE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE IMMUNOCOMPETENT ORGANS UNDER CONDITIONS OF DAMAGED PORTAL BLOOD SUPPLY OF THE LIVER

In CBA mice calibrated stenosis of the portal vein was produced. Liver and immunocompetent organs were morphologically analyzed. The total number of hemopoietic stem cells in the bone marrow was estimated by the colony-forming cells and in the spleen after immunization with sheep red cells by the plaque forming method. It is established that stenosis of the portal vein (on the average by 45 % and 58 %) produced the histostructural changes in the liver and in the immunocompetent organs. Expression of morphological changes depended on the time elapsed after operation and the degree of the portal vein stenosis. These changes were the most pronounced on the 16-17th day when stenosis of the portal vein was 58 %. The character of the changes in the number of the hemopoietic stem cells in the bone marrow and in that of antibody-forming cells in the spleen depended on the degree of the liver damage. These changes increased with the degree of the liver histostructure damage. The maximal liver damage was accompanied by a decrease of these indices.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровков С. А., Волкова М. И. Изменение активности некоторых ферментов при острых нарушениях печеночного кровотока // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1974.— Вып. 1.— С. 57—61.
2. Клейда В., Асеев В. Нарушение портального кровотока в экспериментальном моделировании патологии некоторых органов пищеварения // Актуальные проблемы лечения недостаточности почек: Тез. докл.— Тарту, 1986.— С. 53—54.
3. Леонтьев А. Ф., Чистова Л. В., Марков Б. А. и др. Диагностика редких форм блокады портального кровообращения у детей // VI Всероссийский съезд детских врачей: Краткие тезисы.— Горький, 1987.— С. 277—278.
4. Мухамеджанов И. А. О реакции печени кроликов на выключение воротного или артериального кровообращения // Изв. АН, отд. биол. наук АН Тадж ССР.— 1970.— 1 (58).— С. 74—76.
5. Салий М. Е., Юрченко И. И., Ультан Г. А. Случай первичного склероза воротной вены // Врачеб. дело.— 1987.— № 7.— С. 27—28.
6. Фишер А. Физиология и экспериментальная патология печени.— Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1961.— 216 с.
7. Jerne N. K., Nordin A. A. Plaque formation in agar by single antibody — producing cells // Science.— 1963.— 140, N 2.— P. 405.
8. Till J. E., McCulloch E. A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // Rad. Res.— 1961.— 14.— P. 213—222.

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

Материал поступил
в редакцию 02.04.90

УДК 612.351.110.12:612.67

Г. И. Парамонова

Влияние денервации печени на систему микросомального окисления взрослых и старых крыс

Для выяснения роли возрастных изменений активности ферментов микросомального окисления печени в развитии старения важным является изучение механизмов регуляции этой системы на уровне целостного организма. Одним из подходов к выявлению нервного контроля над детоксикацией служит изучение сдвигов активности ферментов микросомального окисления при денервации печени [2, 5]. Комплексом работ Фролькиса и соавт. [12] показано, что при старении нервный контроль

© Г. И. ПАРАМОНОВА, 1990.

над органами и тканями ослабляется. Можно предположить, что изучение возрастных особенностей влияния денервации печени на систему микросомального окисления приблизит к пониманию роли вегетативной нервной системы в механизмах изменения детоксикации организма в старости.

Цель нашей работы — изучение влияния хирургической денервации печени на базальное и индуцированное фенобарбиталом содержание цитохрома Р-450, его каталитическую активность и изоформный состав у взрослых и старых крыс.

Методика

Работа выполнена на 150 крысах-самцах линии Вистар двух возрастных групп: взрослые (6—7 мес) и старые (26—27 мес). Денервацию печени осуществляли двусторонней перерезкой чревных нервов внебрюшинно, под диафрагмой, у входа в солнечное сплетение (частичная десимпатизация), и поддиафрагмальной стволовой ваготомией с перерезкой передней и задней ветвей блуждающих нервов и удалением их, по возможности, на большем протяжении. Контролем служили ложнопериованные животные. Операции проводили под пентобарбитальным наркозом (2,5 мг/100 г, внутривенно). Фенобарбитал натрия (8 мг/100 г, внутривенно) вводили ежедневно, в течение 3 сут, за трое суток до забоя. Через 7 сут после операции животных забивали декапитацией под эфирным наркозом, микросомы печени получали методом дифференциального центрифугирования [7]. Для освобождения от сорбированных белков фракцию микросом пересаживали в раствор пирогосфата натрия (100 ммоль/л). В микросомной фракции печени определяли концентрацию цитохрома Р-450 (нмоль/мг белка) [15], аминопириндеметилазную (нмоль формальдегида · мг⁻¹ · мин⁻¹) [1] и анилингидроксилазную (нмоль парааминофенола · мг⁻¹ · мин⁻¹) [7] активности. Содержание белка определяли методом Lowry [14] при наличии 5 % дезоксихолата натрия.

Электрофоретическое разделение белков микросом проводили по методу Laemmly [13], приспособленному к электрофорезу в пластинах геля. Гель длиной 20 см состоял из полиакриламида с градиентом концентрации от 5 до 15 %. После электрофореза гели фиксировали в смеси трихлоруксусная кислота : изопропиловый спирт : вода (12:25:63) в течение ночи, а затем окрашивали с помощью красителя Кумасси бриллиантовый голубой G-250 (0,04 %-ный коллоидный раствор, приготовленный на 3,5 %-ном водном растворе HClO₄) в течение 1,5 ч при комнатной температуре. После этого гель вымачивали в 5 %-ном растворе уксусной кислоты. При такой обработке интенсивность окраски белковых полос увеличивается, фон становится прозрачным и не требует дальнейшей отмывки [9]. Денситометрирование гелей проводили на лазерном денситометре LKB Ultrascan XL, снабженном интегратором. Расчет молекулярной массы полипептидных цепей белков проводили по методу Weber и Osborn [17] с использованием стандартов молекулярной массы (PTM4, фирмы «Serwa»). Статистическую обработку проводили по общепринятым методам вариационной статистики [11].

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования показали (таблица), что ваготомия печени приводит к изменению активности микросомальных монооксигеназ. Так, у взрослых животных после ваготомии аминопириндеметилазная активность снижается на 26,7 %, а у старых — достоверно возрастает на 17,3 %. Снижение анилингидроксилазной активности составляет 58,9 % у взрослых крыс и 60 % у старых. На фоне изменения активности микросомальных монооксигеназ концентрация цитохрома Р-450 у взрослых и старых животных существенно не изменяется ($P > 0,05$).

Нарушения симпатической иннервации печени приводят к снижению концентрации цитохрома Р-450 на 17,4 % у взрослых и на 14,5 % у старых животных. При этом анилингидроксилазная активность у взрослых крыс снижается на 26,7 %, у старых — на 46,3 %, а аминопириндеметилазная — возрастает на 60,7 % у взрослых животных и на 32,6 % у старых.

Таким образом, нарушения регуляции печени симпатической и парасимпатической нервной системой приводят к изменениям базаль-

Влияние денервации и введения фенobarбитала на концентрацию цитохрома Р-450, аминопириндеметилазную (АПД) и анилингидроксилазную (АГ) активности микросом печени взрослых и старых крыс ($\bar{X} \pm m$)

Условие опыта	Цитохром Р-450, нмоль/мг	АПД, нмоль·мг ⁻¹ × × мин ⁻¹	АГ, нмоль·мг ⁻¹ × × мин ⁻¹
Взрослые крысы			
Контроль	0,616±0,081	5,52±1,19	0,326±0,027
Ваготомия	0,529±0,146	4,05±1,12*	0,134±0,056*
Симпатотомия	0,509±0,062*	8,87±1,21*	0,239±0,050*
Фенobarбитал	1,728±0,023*	14,06±1,92*	0,890±0,034*
Ваготомия и фенobarбитал	1,197±0,027*	9,58±1,33*	0,623±0,012**
Симпатотомия и фенobarбитал	1,535±0,096*	12,94±0,66*	0,734±0,050**
Старые крысы			
Контроль	0,607±0,062	4,72±0,62	0,395±0,070
Ваготомия	0,521±0,095	5,54±0,39*	0,158±0,049*
Симпатотомия	0,519±0,068*	6,26±1,75	0,212±0,033*
Фенobarбитал	1,238±0,130*	10,63±0,66*	0,714±0,022*
Ваготомия и фенobarбитал	1,129±0,036*	10,05±2,19*	0,522±0,021**
Симпатотомия и фенobarбитал	1,337±0,044*	10,35±0,54*	0,789±0,045*

Примечания: в таблице представлены результаты исследования 7—8 животных; * $P < 0,05$ по сравнению с группой контрольных животных, + $P < 0,05$ по сравнению с группой животных, которым вводили фенobarбитал.

ной активности ферментов микросомального окисления. Следует учитывать, что изменение нервной регуляции оказывает существенное влияние на течение метаболических процессов в печени, включая синтез ферментных белков и активность генетического аппарата клетки [4, 6]. В связи с этим в следующей серии опытов было изучено влияние денервации печени на индуктивный синтез цитохрома Р-450, вызванный введением фенobarбитала.

Как видно из таблицы, под влиянием ваготомии у взрослых животных ослабляется индуктивный эффект фенobarбитала, определяемый по концентрации цитохрома Р-450, аминопириндеметилазной и анилингидроксилазной активностям. Так, под влиянием фенobarбитала концентрация цитохрома Р-450 у ложнооперированных крыс увеличивается на 180 %, а у ваготомированных — на 94,3 %. При этом аминопириндеметилазная активность у контрольных крыс возрастает на 154,7 %, у денервированных — на 73,5 %, а анилингидроксилазная — на 173 и 91 % соответственно.

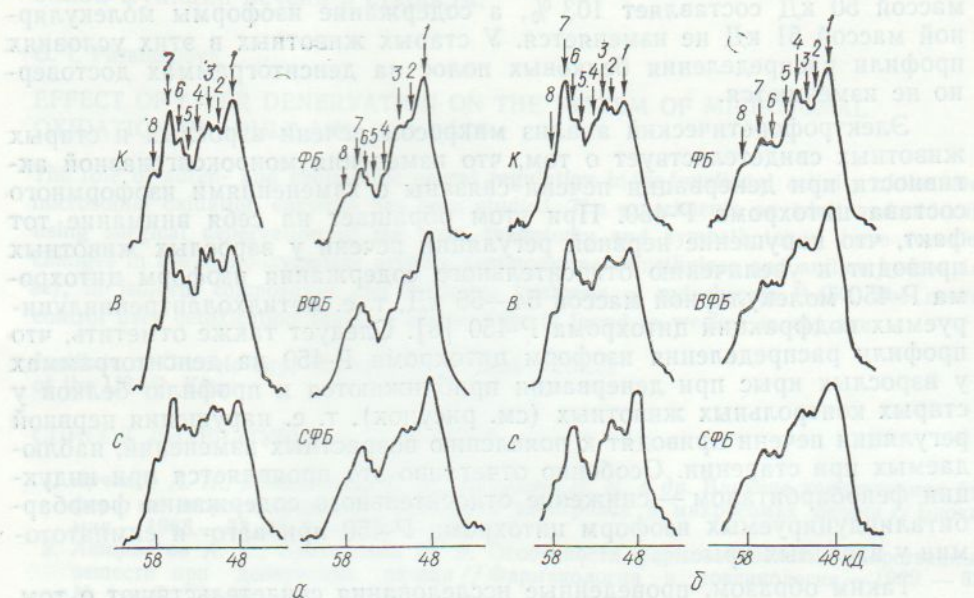
У старых крыс индуктивный эффект фенobarбитала, как для контрольных, так и для ваготомированных крыс, был значительно ниже, чем у взрослых. Концентрация цитохрома Р-450 у контрольных животных при введении фенobarбитала увеличивалась на 103,9 %, активность аминопириндеметилазы и анилингидроксилазы — на 125 и 80,7 % соответственно. После ваготомии прирост значений этих показателей составлял 116,7, 112,9 и 32,1 % соответственно, т. е. снижение индуктивного эффекта фенobarбитала у ваготомированных старых крыс отмечалось лишь для анилингидроксилазной активности.

Под влиянием симпатотомии у взрослых животных также снижался индуктивный эффект фенobarбитала: прирост концентрации цитохрома Р-450 составлял 149 %, аминопириндеметилазы — 134 %, анилингидроксилазы — 125 %, что на 31, 20 и 48 % соответственно ниже, чем в группе контрольных животных. У старых крыс, в отличие от взрослых, нарушение симпатической иннервации печени не изменяло индуктивный синтез микросомальных монооксигеназ по всем изучаемым показателям.

Таким образом, симпатическая и парасимпатическая денервация печени вызывает существенные изменения функциональной активности

ферментов микросомального окисления. Большая выраженность постденервационных изменений монооксигеназной активности и индуктивного синтеза цитохрома Р-450 у взрослых животных, по сравнению со старыми, свидетельствует об ослаблении нервного контроля в старости над детоксикационной функцией печени.

Результаты исследований показывают, что постденервационные изменения монооксигеназной системы гепатоцитов у взрослых и старых животных весьма неоднородны и носят порой разнонаправленный



Денситограммы электрофоретического разделения белков микросом печени взрослых (а) и старых (б) крыс. Группы животных — К — контроль, В — ваготомия, С — симпатотомия, ФБ — фенobarбитал, ВФБ — ваготомия и фенobarбитал, СФБ — симпатотомия и фенobarбитал. Стрелками обозначены изоформы цитохрома Р-450 молекулярной массой (кД):

1 — 48, 2 — 50, 3 — 51, 4 — 52, 5 — 54, 6 — 55, 7 — 56, 8 — 58.

характер. Так, на фоне незначительных изменений концентрации цитохрома Р-450 после ваготомии у взрослых и старых животных существенно снижается анилингидроксилазная активность. Аминопириндеметилазная — у взрослых крыс снижается, у старых — возрастает. Симпатотомия приводит к выраженному снижению концентрации цитохрома Р-450 у взрослых и старых крыс и разнонаправленным сдвигам аминопириндеметилазной и анилингидроксилазной активностей.

Для анализа этих изменений проведено электрофоретическое разделение белков микросом печени взрослых и старых крыс. На рисунке представлены денситограммы белков молекулярной массой от 46 до 60 кД, т. е. той области, в которой находятся изоформы цитохрома Р-450. Результаты исследования денситограмм показали, что общая площадь этой области в различных сериях опытов практически одинакова ($P > 0,02$), однако относительная площадь отдельных пиков существенно изменяется. Так, под влиянием ваготомии у взрослых крыс на 98 % увеличивается содержание изоформы цитохрома Р-450 молекулярной массой 54 кД, на 60 % возрастает изоформа молекулярной массой 50 кД. У старых крыс увеличение изоформы цитохрома Р-450 молекулярной массой 54 кД при ваготомии составляет только 29 %. Симпатотомия приводит к увеличению площади полос для белков молекулярной массой 50, 54 и 56 кД у взрослых животных на 65, 72 и 24 % соответственно, а у старых — полипептидов молекулярной массой 51 и 52 кД (на 32 %). При этом у старых крыс существенно уменьшаются изоформы цитохрома Р-450 молекулярной массой 54 и 56 кД — на 60 и 36 %. Под влиянием фенobarбитала у взрослых животных

увеличивается относительное содержание белков молекулярной массой 50 и 51 кД (на 128 и 62 % соответственно) и снижается — в области 54—58 кД (на 40—60 %). У старых крыс эти изменения выражены меньше — прирост площади полипептидов молекулярной массой 50 кД составляет 63 %. Введение фенobarбитала на фоне ваготомии у взрослых крыс приводит к менее выраженному приросту содержания изоформ молекулярной массой 50 и 51 кД — на 65 и 40 % соответственно, а на фоне симпатотомии прирост содержания изоформы молекулярной массой 50 кД составляет 103 %, а содержание изоформы молекулярной массой 51 кД не изменяется. У старых животных в этих условиях профили распределения белковых полос на денситограммах достоверно не изменяются.

Электрофоретический анализ микросом печени взрослых и старых животных свидетельствует о том, что изменения монооксигеназной активности при денервации печени связаны с изменениями изоформного состава цитохрома Р-450. При этом обращает на себя внимание тот факт, что нарушение нервной регуляции печени у взрослых животных приводит к увеличению относительного содержания изоформ цитохрома Р-450 молекулярной массой 54—56 кД, т. е. метилхолантрениндуцируемых подфракций цитохрома Р-450 [8]. Следует также отметить, что профили распределения изоформ цитохрома Р-450 на денситограммах у взрослых крыс при денервации приближаются к профилю белков у старых контрольных животных (см. рисунок), т. е. нарушения нервной регуляции печени приводят к появлению возрастных изменений, наблюдаемых при старении. Особенно отчетливо это проявляется при индукции фенobarбиталом — снижение относительного содержания фенobarбиталиндуцируемых изоформ цитохрома Р-450 при ваго- и симпатотомии у взрослых крыс.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что функциональное состояние микросомальной монооксигеназной системы во многом определяется адрен- и холинергическими нервными влияниями, роль которых в старости существенно ослабляется. Ослабление нервных влияний на систему микросомального окисления при старении может быть связано со сдвигами в структуре нервных окончаний, снижением синтеза медиаторов и с изменениями состояния эффектора. Примечательно, что постденервационные изменения изоформного состава и каталитической активности цитохрома Р-450 у взрослых животных во многом напоминают изменения системы микросомального окисления печени в старости. В основе регуляции ферментативной активности катехоламинами и ацетилхолином лежит их влияние на обмен циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) и Ca^{2+} [10]. В частности, каталитическая активность отдельных изоформ цитохрома Р-450 регулируется цАМФ- и Ca^{2+} -фосфолипидзависимыми протеинкиназами — при фосфорилировании цитохром Р-450 переходит в неактивную форму — цитохром Р-420 [16]. С одной стороны, введение крысам изадрина (активация аденилатциклазы) или теofilлина (ингибирование фосфодиэстеразы) приводит к увеличению содержания цитохрома Р-450, возрастанию скорости окисления НАДФН и гидроксирования анилина в микросомах печени, а введение инсулина, снижающего содержание цАМФ за счет активации фосфодиэстеразы, вызывает противоположный эффект [3]. С другой стороны, цАМФ- и Ca^{2+} -зависимое фосфорилирование является одним из основных механизмов регуляции активности биосинтетических процессов, в том числе и синтеза структурных и ферментных белков эндоплазматического ретикула гепатоцитов. В действии катехоламинов и ацетилхолина на каталитическую активность цитохрома Р-450, по-видимому, имеют значение оба механизма — «срочное» регулирование базального уровня цитохрома Р-450 его фосфорилированием — дефосфорилированием при изменении физиологического состояния клетки и опосредованное — активацией генетического аппарата клетки, приводящей к синтезу de novo определен-

ных изоформ цитохрома Р-450 при поступлении ксенобиотиков. Это предположение подтверждается результатами проведенных исследований, свидетельствующими о том, что нарушения нервной регуляции печени приводят к изменениям каталитической активности цитохрома Р-450, его изоформного состава и индуктивного синтеза. При старении нервный контроль над системой микросомального окисления ослабляется, что, возможно, является одной из причин снижения детоксикационной функции печени в старости.

G. I. Paramonova

EFFECT OF LIVER DENERVATION ON THE SYSTEM OF MICROSOMAL OXIDATION IN ADULT AND OLD RATS

The role of adren- and cholinergic neural regulation in the functional activity of the liver microsomal oxidation enzymes has been studied. The experiments on adult and old rats using surgical denervation of the liver (vagotomy and sympathectomy) have revealed changes in the monooxygenase activity (aminopyrine demethylase and aniline hydroxylase), in isoform composition and inductive synthesis of cytochrome P-450. The neural control over detoxication function of the liver is found to weaken in old age.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences
of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арчаков А. И., Девиченский В. М., Карузина И. И. и др. Влияние концентрации буфера на скорость реакций транспорта электронов в микросомах печени // Биохимия.— 1968.— 33, № 3.— С. 479—485.
2. Аширметов А. Х., Краковский М. Э. Особенности фармакокинетики лекарственных веществ при денервации печени // Фармакология и токсикология.— 1989.— 52, № 1.— С. 77—80.
3. Бушма М. И., Лукиенко П. И., Легонькова Л. Ф. Влияние веществ, изменяющих внутриклеточное содержание цАМФ, на активность цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ печени крыс // Цитохром Р-450 и охрана внутренней среды человека // Тез. докл. Всесоюз. конф. (Москва, 12—18 августа 1985 г.).— Пушкино, 1985.— С. 58—59.
4. Голиков С. Н., Долго—Сабуров В. Б., Елаев Н. Р., Кулешов В. И. Холинергическая регуляция биохимических систем клетки.— М.: Медицина.— 1985.— 224 с.
5. Дубовая Т. К., Мальцева И. К., Жирнов Г. Ф., Лисицина В. Б. Морфофункциональный анализ реакций эндоплазматической сети гепатоцитов ваготомированной печени на введение фенобарбитала / Цитохром Р-450 и охрана окружающей среды // Тез. докл. Всесоюз. конф. (Новосибирск, 27—31 июля 1987 г.) — Новосибирск, 1987.— С. 97.
6. Ильин В. С., Протасова Т. Н., Титова Г. В., Шаныгина Г. И. Биохимические основы механизмов гомеостаза // Гомеостаз.— М.: Медицина.— 1981.— С. 114—160.
7. Карузина И. И., Арчаков А. И. Выделение микросомной фракции и характеристика ее окислительных систем // Современные методы в биохимии.— М.: Медицина, 1977.— С. 49—62.
8. Мишин В. М., Ляхович В. В. Множественные формы цитохрома Р-450.— Новосибирск: Наука.— 1985.— 181 с.
9. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование.— М.: Наука, 1981.— 288 с.
10. Сергеев П. В., Мимановский Н. Л. Рецепторы.— М.: Медицина, 1987.— 397 с.
11. Урбах В. Б. Биометрические методы.— М.: Наука, 1964.— 250 с.
12. Фроликис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1981.— 320 с.
13. Laemmly U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4 // Nature.— 1970.— 227, N 59.— P. 681—685.
14. Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L., Randall R. I. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.— 1951.— 193.— P. 265—275.
15. Omura T., Sato S. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilisation, purification and properties // J. Biol. Chem.— 1964.— 239.— P. 2379—2385.
16. Pyerin W., Taniguchi H., Horn F. et al. Isozyme-specific phosphorylation of cytochromes P-450 and other drug metabolizing enzymes // Biochem. and Biophys. Res. Commun.— 1987.— 142, N 3.— P. 885—892.
17. Weber K., Osborn M. The reliability of molecular weight determinations dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis // J. Biol. Chem.— 1969.— 244 N 16.— P. 4406—4412.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 17.05.90

Возрастные особенности влияния инсулина на мембранный потенциал клеток пучковой зоны коры надпочечников

В сложной системе нейрогуморальной регуляции существенное значение имеют межэндокринные связи, изменение которых недостаточно изучено при старении. За последние годы [1—3] накоплены факты, подтверждающие, что секреторная активность клеток эндокринных желез во многом определяется мембранными механизмами, в частности поляризацией клеточной мембраны. Известна связь между секрецией тиреоидных, глюкокортикоидных гормонов и транспортом ионов К, Са, Na [1—3].

В межэндокринных взаимосвязях большое значение придается особенностям взаимодействия секреции инсулина и секреции глюкокортикоидов, играющих существенную роль в регуляции углеводного обмена и биосинтеза белка. Вместе с тем, до сих пор не изучены возрастные особенности влияния инсулина на биофизические параметры адренокортикоцитов (АКЦ). Актуальность проблемы связана с тем, что биофизические характеристики клетки, в частности ее мембранный потенциал (МП), являются своеобразной сигнальной системой, определяющей способность клетки реагировать на приходящие воздействия, выполняя тем самым функцию регулятора [5].

В связи с этим представляет интерес изучить возрастные особенности влияния инсулина на МП АКЦ пучковой зоны коры надпочечников, синтезирующих глюкокортикоиды, и проанализировать некоторые стороны механизма их действия, что и явилось целью нашей работы.

Методика

Исследования проведены на изолированных надпочечниках (ИН) крыс-самцов линии Вистар двух возрастных групп: взрослых (6—7 мес) и старых (26—28 мес). Определяли МП клеток пучковой зоны коры надпочечников. Животным обеих возрастных групп инсулин (1,6 Ед/кг) вводили внутривенно. Для предупреждения гипогликемии одновременно с инсулином животным внутривенно вводили 40 %-ный раствор глюкозы (5 мл/кг). Отдельным группам взрослых и старых животных за 40 мин до инъекции инсулина вводили внутривенно ингибитор Na, К-АТФазы оубаин (0,7 мг/кг) или блокатор калиевых каналов 2-аминопиридин (0,8 мг/кг), или ингибитор биосинтеза белка актиномицин Д (50 мкг/кг). Применение этих веществ в указанных дозах у контрольных животных не вызывало достоверных изменений МП АКЦ. Через 1 ч после введения инсулина животных декапитировали, извлекали оба надпочечника, разрезали пополам, фиксировали на пластмассовой подложке и помещали в инкубационные камеры. Для инкубации использовали раствор Кребса—Хенселейта ($t=37^\circ\text{C}$) с бикарбонатным буфером для стабилизации pH раствора в пределах 7,2—7,6 в течение опыта. Аэрацию раствора осуществляли постоянным пропусканием через него газовой смеси, содержащей 95 % кислорода и 5 % углекислого газа.

С целью обеспечения чистоты эксперимента (исключить возможное гиперполяризующее действие гипогликемии, развивающейся после введения инсулина) у части интактных животных обеих возрастных групп определяли влияние инсулина на МП АКЦ *in vitro*. Для этого выделенные надпочечники инкубировали в растворе Кребса—Хенселейта с инсулином, концентрация которого составляла 0,1 Ед/мл.

Регистрацию МП осуществляли с помощью стандартной микроэлектродной техники в течение 1,5 ч после извлечения надпочечников. Для измерения использовали микроэлектродный усилитель типа MZ-4 фирмы «Nichon—Conden» (Япония). Использовали стеклянные микроэлектроды (стекло марки «pireks»), заполненные 2,5 моль/л ра-

створом KCl, имеющие диаметр кончика менее 1 мкм, сопротивление 20—40 МОм и собственный потенциал не более 5 мВ. МП измеряли в течение 5—10 с после появления скачка потенциала при проникновении кончика микроэлектрода в клетку. За более продолжительный период регистрации МП наблюдалось градуальное снижение МП, обусловленное, вероятно, повреждением клеточной мембраны. Регистрируемые значения идентифицировали в соответствии с литературными данными о корреляции электрических потенциалов с гистологическими особенностями строения пучковой зоны коры надпочечников [12]. Определяли также активность Na^+ , K^+ -АТФазы гомогената надпочечников. С этой целью ИН гомогенизировали на холоду в буфере следующего состава: $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л *трис*-HCl, $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л дитиотрейтола, $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л фенилметилсульфанилфторида (pH 7,5). Активность Na^+ , K^+ -АТФазы определяли по методу, описанному Потапенко [4], концентрацию белка в пробах — по методу Лоури [11]. Контрольным животным вводили физраствор. Статистическую обработку результатов исследований проводили общепринятыми методами.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что в старости значение МП АКЦ пучковой зоны надпочечников не изменяется ($P > 0,05$). Внутривенное введение инсулина вызывает выраженную гиперполяризацию АКЦ, причем у старых животных увеличение значения МП под влиянием инсулина достоверно ниже, чем у взрослых. В механизме действия инсулина на состояние ПМ АКЦ, очевидно, играет роль прямое влияние гормона. Это подтверждается специальной серией опытов *in vitro*, проведенной нами в условиях инкубации ИН в растворе Кребса—Хенселейта с инсулином. Из таблицы видно, что инсулин, введенный *in vitro*, вызывает достоверную гиперполяризацию АКЦ животных обеих возрастных групп, при этом ИН взрослых животных также давали более выраженную реакцию на инсулин. Вместе с тем, необходимо учитывать, что в условиях целостного организма этот эффект может суммироваться с действием развивающейся постинсулиновой гипогликемии.

Влияние введения некоторых ингибиторов на инсулининдуцируемую гиперполяризацию плазматических мембран адренокортикоцитов

Воздействие	Мембранный потенциал	
	взрослых животных	старых животных
Контроль	$54,2 \pm 0,6$	$52,8 \pm 0,8$ $P_1 > 0,05$
Инсулин <i>in vivo</i>	$61,8 \pm 0,6$	$56,9 \pm 0,5$ $P_1 < 0,01$
	$P_2 < 0,05$	$P_2 < 0,01$
	$58,4 \pm 0,8$	$56,9 \pm 0,6$ $P_1 > 0,05$
	$P_2 < 0,01$	$P_2 < 0,01$
in vitro	$51,0 \pm 1,0$	$50,0 \pm 0,5$ $P_1 > 0,05$
	$P_2 > 0,05$	$P_2 < 0,05$
	$59,3 \pm 0,6$	$56,0 \pm 0,6$ $P_1 < 0,05$
	$P_2 < 0,01$	$P_2 < 0,05$
Оуабаин и инсулин	$54,4 \pm 0,08$	$53,3 \pm 0,7$ $P_1 > 0,05$
2-Аминопиридин и инсулин	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$
Актиномицин Д и инсулин		

Примечание. P_1 — достоверность возрастных различий, P_2 — достоверность различий по сравнению с контролем.

Развитие гиперполяризации может быть связано с активацией Na^+ , K^+ -АТФазы или K^+ -каналов. Как видно из таблицы, оуабаин блокирует развитие инсулининдуцируемой гиперполяризации АКЦ и взрослых, и старых животных. Для блокады K^+ -каналов был использован

2-аминопиридин. Опыты показали, что этот блокатор не предупреждает развития гиперполяризации АКЦ животных обеих возрастных групп. Дозы препаратов подбирали такие, которые сами по себе не вызывали достоверной деполяризации ПМ АКЦ. Результаты опытов позволяют сделать вывод, что развитие гиперполяризации АКЦ связано с активацией Na^+ , K^+ -насоса.

Для подтверждения предположения о ведущей роли активного транспорта ионов в механизме инсулининдуцированной гиперполяризации ПМ АКЦ определяли активность Na^+ , K^+ -АТФазы гомогената надпочечников животных обеих возрастных групп до и после инъекции инсулина. Установлено, что внутрибрюшинное введение инсулина вызывает достоверную активацию Na^+ , K^+ -АТФазы гомогената надпочечников и взрослых, и старых животных, которая более выражена у взрослых крыс. Так, активность Na^+ , K^+ -АТФазы контрольных взрослых животных составляла $4,9 \pm 0,7$, а у животных, которым вводили инсулин, — $(8,1 \pm 0,9)$ пмоль $\text{P}_i \cdot \text{мг}^{-1}$ белка $\cdot \text{мин}^{-1}$ ($P < 0,05$). Активность Na^+ , K^+ -АТФазы контрольных старых животных составляла $5,8 \pm 0,9$, активность Na^+ , K^+ -АТФазы старых животных, инъектированных инсулином, — $(8,7 \pm 0,5)$ пмоль $\text{P}_i \cdot \text{мг}^{-1}$ белка $\cdot \text{мин}^{-1}$ ($P < 0,05$).

Работами Фролькиса и соавт. [5, 7] показано, что развитие гиперполяризации ПМ клеток различных тканей, наблюдающееся под действием некоторых гормонов, сопряжено с активацией белоксинтезирующих процессов. В наших опытах был использован актиномицин Д, блокирующий транскрипцию. Как следует из таблицы, на фоне действия актиномицина Д инсулин не вызывает увеличения МП АКЦ животных обеих возрастных групп. Не существует единого мнения о возможном механизме развития инсулининдуцируемой гиперполяризации ПМ. Предполагают, что в основе гиперполяризующего действия инсулина на ПМ лежат стимуляция Na^+/H^+ -обмена [10], значительное снижение натриевой проницаемости мембран при относительно небольшом снижении калиевой [13]. Большинство же авторов полагают, что инсулин стимулирует Na^+/K^+ -обмен активацией Na^+/K^+ -насоса [9, 14], что снижает внутриклеточное содержание натрия и тем самым гиперполяризует мембрану. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что гиперполяризующее действие инсулина на плазматические мембраны адренокортикоцитов пучковой зоны коры надпочечников преимущественно связано со стимуляцией активного транспорта ионов вследствие значительной стимуляции Na^+/K^+ -насоса, и зависит от белоксинтезирующих процессов.

Выводы

1. Не обнаружено существенных возрастных различий МП АКЦ пучковой зоны коры надпочечников взрослых и старых крыс.
2. В опытах *in vivo* и *in vitro* инсулин вызывает гиперполяризацию ПМ АКЦ изолированных надпочечников.
3. Под влиянием инсулина повышается активность Na^+ , K^+ -АТФазы изолированных надпочечников животных обеих возрастных групп; оубаин блокирует инсулининдуцируемую гиперполяризацию АКЦ.
4. Влияние инсулина на МП АКЦ изолированных надпочечников более выражено у взрослых животных, чем у старых.

G. M. Tyukhtin

AGE PECULIARITIES OF INSULIN EFFECT ON THE MEMBRANE POTENTIAL OF CELLS OF ADRENOCORTICAL ZONA FASCICULATE

The value of the membrane potential of adrenocorticoocytes (ACC) in zona fasciculata of isolated adrenal (IA) cortex and the activity of Na , K -ATPase of IA homogenate is determined in adult (6-7 months) and old (26-28 months) male Wistar rats. No significant

age differences are found in the above indices. Administration of insulin in vivo (1.6 U/kg) and in vitro (0.1 U/ml) induced hyperpolarization of ACC plasmic membranes. Insulin increases the activity of Na, K-ATPase of IA in animals of both age groups. Ouabain and actinomycin D blocks the insulin-induced hyperpolarization of ACC, while 2-aminopyridine has no effect on this process. Insulin effect on the MP of IA ACC is less pronounced in old vs. adult animals.

Institute of Gerontology, Academy
of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбань Е. Н. Возрастные особенности влияния тиротропного гормона на мембранный потенциал клеток щитовидной железы // Физиол. журн.— 1979.— 25, № 6.— С. 395—401.
2. Горбань Е. Н., Файзуллин В. В. Старение секреторных клеток // Физиологические механизмы старения.— Л.: Наука, 1982.— С. 19—34.
3. Золов Г. К., Слепушкин В. Д., Ивакин С. Н., Пак Л. М. Влияние ионов кальция на глюкокортикоидную функцию надпочечников // Пробл. эндокринологии.— 1985.— 25, № 5.— С. 69—71.
4. Потапенко Р. И. Возрастные особенности влияния ацетилхолина, норадреналина и вазопрессина на активность Na, K-АТФазы плазматических мембран нервных окончаний мозга крыс // Нейрохимия.— 1986.— 5, № 1.— С. 57—59.
5. Фролькис В. В. Изменения связи между активностью генетического аппарата и уровнем поляризации мембраны клетки — важный механизм старения // Физиологические и молекулярные аспекты онтогенеза.— Киев, 1977.— С. 35—42.
6. Фролькис В. В., Ступина А. С. Структура и функция клетки // Общая биология старения.— Л.: Наука, 1982.— С. 213—235.
7. Фролькис В. В., Парамонова Г. И., Гольдштейн Н. Б. Влияние гиперполяризации плазматической мембраны на состояние хроматина и биосинтеза белка гепатоцитов крыс разного возраста // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1987.— № 3.— С. 79—81.
8. Clausen N. T., Flatman J. A. Effects of insulin and glucose transport in soleus muscle // *Aver. J. Physiol.*— 1987.— 252, N 4.— P. 492—499.
9. Craciun M., Agrigoroaei St., Jitariu P. Insulin and (Na—K) pump. // *Rev. roum. biol. Ser. biol. anim.*— 1981.— 26, N 2.— P. 171—176.
10. Kernan R. P. Insulin-induced changes in intracellular sodium activity and pH in ouabaininhibited frog sartorii measured by ion-selective micro-electrodes // *J. Physiol.*— 1984.— 355.— P. 16—24.
11. Loury O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. G. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.*— 1951.— 193, N 1.— P. 265—275.
12. Matthews E. K. Membran potential measurement in cells of the adrenal glands // *J. Physiol.*— 1967.— 189.— P. 139—148.
13. Zierler K. Actions of insulin on electrical potential differences across cell membranes // *Mol. Basis Insulin Act.*— New York, London, 1985.— P. 119—133.
14. Rosic N. K., Stanaert M. L., Pollet R. J. The mechanism of insulin stimulation of (Na, K)—ATPase transport activity in muscle // *J. Biol. Chem.*— 1985.— 260, N 10.— P. 6206—6212.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 28.03.90

УДК 616.36—002.2—097

Г. В. Брюхин, Г. И. Михайлова

Интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа у потомства самок крыс с хроническим поражением печени

В ряде работ показано, что между материнским и внутриутробно развивающимися организмами устанавливаются выраженные взаиморегулирующие влияния, в осуществлении которых особую роль играет иммунная система [3, 4]. Известно, что экстрагенитальные заболевания матери являются одной из причин перинатальной патологии и смертности. Однако влияние на потомство хронических заболеваний печени матери, занимающих особое место среди экстрагенитальной патологии, изучено мало, а имеющиеся в литературе единичные сведения носят противоречивый характер [6, 10]. Указанные теоретические предпосылки, а также малочисленность и противоречивость данных, представленных в литературе, явились основанием для изучения особенностей формирования реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЧЗТ) у потомства матерей с экспериментальным хроническим аутоиммунным процессом, ведущим к преимущественному поражению печени.

Методика

Исследования проведены на белых лабораторных крысах-самках линии Вистар, полученных из питомника «Рапполово», у которых моделировали аутоиммунный процесс с преимущественным поражением печени длительной иммунизацией гомологичным печеночным антигеном [2]. Об аутоиммунном поражении печени судили на основании повышенного титра печеночных аутоантител, повышенного содержания в сыворотке гаммаглобулинов и морфологических изменений печени: периваскулярной лимфогистиоцитарной инфильтрации, умеренной выраженной дистрофии гепатоцитов, гиперплазии купферовских клеток и др. Исследовали взрослых животных (самок) с экспериментальным аутоиммунным поражением печени, а также их потомство на 1-е, 15-е, 30-е и 45-е сутки раннего периода постнатального онтогенеза. Всего исследовано 85 животных контрольной и 115 — опытной групп.

Изучение особенностей реакции ГЧЗТ проводили по методике Lagrange и соавт. [14], используя кожные пробы. Животных сенсибилизировали внутрибрюшинным введением $2 \cdot 10^7$ эритроцитов барана (ЭБ), число и доза которых рассчитывались на 1 г массы взятого в эксперимент животного. На 4-е сутки в подушечку задней лапки подкожно вводили разрешающую дозу эритроцитов барана (10^9 клеток в 2 мкл физиологического раствора), а в другую лапку — такую же дозу (по объему) физиологического раствора. Через сутки с помощью инженерного микрометра МК-025 оценивали выраженность отека. Об интенсивности реакции ГЧЗТ судили по разности значений отека обеих лапок и разности значений массы их подколенных лимфатических узлов.

Кроме того, было изучено влияние клеток селезенки, взятой от животных с хроническим экспериментальным аутоиммунным поражением печени и от их потомства в различные сроки раннего периода постнатального онтогенеза, на индуктивную и экспрессивную стадии ГЧЗТ. С этой целью интактным реципиентам, внутрибрюшинно вводили приготовленную взвесью спленоцитов ($5 \cdot 10^5$ клеток) [13] либо перед введением сенсибилизирующей дозы (индуктивная фаза), либо перед введением разрешающей дозы (экспрессивная фаза). На 4-е сутки животным вводили разрешающую дозу (10^9 клеток в 2 мкл физиологического раствора) ЭБ в подушечку задней правой лапки, а

© Г. В. БРЮХИН, Г. И. МИХАЙЛОВА, 1990.

левой — 2 мкл физиологического раствора. Интенсивность реакции ГЧЗТ также оценивали через 24 ч по разности значений толщины отека (1·100, мм) лапок.

Кроме того, с целью изучения чувствительности спленоцитов к гидрокортизону их предварительно инкубировали в среде, содержащей 0,025 мг гидрокортизона, а затем вводили внутрибрюшинно intactным животным ($5 \cdot 10^5$ клеток/г) на 3-и сутки, т. е. перед введением разрешающей дозы.

Относительную супрессию реакции ГЧЗТ у потомства самок крыс оценивали супрессивной активностью (СА) клеток селезенки [9, 12], которую определяли по формуле

$$CA = \left[1 - \left(\frac{\text{среднее значение размера отека в опыте}}{\text{среднее значение размера отека в контроле}} \right) \cdot 100 \right] \%.$$

Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 1, во все сроки исследования потомство животных с хроническим экспериментальным аутоиммунным процессом с преимущественным поражением печени характеризуется более низкими значениями интенсивности реакции ГЧЗТ, что может указывать на депрессию клеточного иммуногенеза. Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее выраженные изменения этой реакции отмечаются на 30-е и 45-е сутки раннего периода постнатального онтогенеза.

Согласно литературным данным, спленоциты иммунизированных животных могут оказывать влияние на интенсивность иммунного ответа [1, 7, 8, 11, 13] intactных сингенных реципиентов. В связи с этим мы исследовали влияние спленоцитов опытной группы (самок и их потомства) на индуктивную и экспрессивную фазы иммунной реакции ГЧЗТ intactных животных. Анализ полученных результатов (табл. 2) позволяет сделать заключение, что спленоциты животных с аутоиммунным поражением печени и их потомства в условиях сингенного переноса иммунизированным реципиентам в экспрессивную фазу реакции ГЧЗТ вызывает ее угнетение и не приводит к изменению интенсивности данной реакции в индуктивную фазу. Логично предположить, что выраженный супрессивный эффект иммунных спленоцитов опытной группы животных в условиях сингенного переноса на экспрессивную фазу реакции ГЧЗТ иммунизированных реципиентов связан с повышенным содержанием в их селезенке супрессоров реакции ПЧЗТ, оказывающих при сингенном переносе ингибирующее действие на формирование клеточ-эффекторов. Это также находит свое отражение в том, что спленоциты опытной группы животных при сингенном переносе обуславливают более высокую (см. табл. 2), чем спленоциты контрольной группы, относительную супрессию реакции ГЧЗТ.

Таблица 1. Разность значений характеризующих интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЧЗТ) показателей левой и правой задних лапок у потомства экспериментальных животных

Показатель интенсивности реакции ГЧЗТ	Возраст животного			
	1-е сутки	15-е сутки	30-е сутки	45-е сутки
Контрольная группа животных				
Размер ($\times 100$) отека лапки, мм	33,1 $\pm$ 1,5*	50,1 $\pm$ 1,1*	77,5 $\pm$ 3,6	78,75 $\pm$ 1,1
Масса ($\times 1000$) подколенных лимфатических узлов, г	0,12 $\pm$ 0,01	0,91 $\pm$ 0,03	1,4 $\pm$ 0,06	1,76 $\pm$ 0,05
Опытная группа животных				
Размер ($\times 100$) отека лапки, мм	27,5 $\pm$ 1,9	48,3 $\pm$ 1,98	60,0 $\pm$ 2,3	51,66 $\pm$ 3,0
Масса ($\times 1000$) подколенных лимфатических узлов, г	0,06 $\pm$ 0,005	0,6 $\pm$ 0,05	0,96 $\pm$ 0,005	0,68 $\pm$ 0,03

* Различия по сравнению с контролем не достоверны ($P > 0,05$).

Кроме того, согласно литературным данным [5], глюкокортикоиды оказывают у нормальных животных супрессорное действие на реакцию ГЧЗТ. Эти данные согласуются с результатами наших исследований. Так, у 15-суточных животных относительная супрессия реакции при

Таблица 2. Влияние спленцитов на показатели интенсивности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЧЗТ) в экспрессивную фазу ($P < 0,05$)

Показатель интенсивности реакции ГЧЗТ	Возраст животного			
	1-е сутки	15-е сутки	30-е сутки	45-е сутки
Контрольная группа животных				
Разность значений размера ($\times 100$) отека левой и правой задних лапок, мм	$28,0 \pm 3,04$	$27,7 \pm 2,84$	$45,0 \pm 1,29$	$36,67 \pm 2,89$
Относительная супрессия реакции ГЧЗТ, %	15,5	44,7	42,0	53,5
Опытная группа животных				
Разность значений размера ($\times 100$) отека левой и правой задних лапок, мм	$18,0 \pm 3,2$	$20,0 \pm 0,88$	$33,3 \pm 0,89$	$23,5 \pm 0,27$
Относительная супрессия реакции ГЧЗТ, %	34,6	58,6	45,0	54,5

действии спленцитов, инкубированных с гидрокортизоном, составляет 75,15 % (в контроле — 58,75 %), а у 45-суточных животных — 96,49 % (в контроле — 85,18 %).

Таким образом, под влиянием гидрокортизона спленциты опытной группы животных оказывают более выраженный иммуносупрессивный эффект при введении их ($5 \cdot 10^5$ клеток) сингенным реципиентам.

Выводы

1. Потомство животных с хроническим аутоиммунным процессом с преимущественным поражением печени в различные сроки постнатального периода онтогенеза характеризуется депрессией клеточного иммунитета, что находит свое отражение в снижении интенсивности иммунной реакции ГЧЗТ.

2. Установлен иммуносупрессивный эффект спленцитов ($5 \cdot 10^5$ клеток) опытной группы животных при введении их сингенным реципиентам в экспрессивную фазу.

G. V. Bryukhin, G. I. Mikhailova

INTENSITY OF THE REACTION OF DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY IN PROGENY OF RAT FEMALES WITH CHRONIC LIVER INJURY

Reaction of the delayed-type hypersensitivity (DTHS) as well as effect of splenocytes in that group of animals on the formation of DTHS reaction into inductive and expressive phases have been studied in progeny of rats with chronic experimental autoimmune liver injury.

Medical Institute, Ministry of Public Health
of the RSFSR, Chelyabinsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бобровник С. А., Лященко К. П. Основные закономерности адаптивного переноса иммунологической памяти к стафилококку интактным реципиентам // Физиол. журн. — 1986. — 32, № 4. — С. 485—488.

2. Брюхин Г. В., Михайлова Г. И. Антителообразующая способность клеток селезенки потомства самок крыс с хроническим поражением печени // Там же.— 1989.— 35, № 2.— С. 97—100.
3. Васильева З. Ф., Шабалин В. Н. Иммунологические аспекты акушерской патологии.— М.: Медицина, 1984.— 192 с.
4. Говалло В. И. Иммунология репродукции.— М.: Медицина, 1987.— 304 с.
5. Гюллинг Э. В., Самбур М. Б., Писанко В. Н. Участие вилочковой железы в реализации иммуномодулирующего действия гидрокортизона // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1985.— № 1.— С. 78—80.
6. Кусаинова И. З. Влияние экстрагенитальных заболеваний у беременных на возникновение осложнений родов и послеродового периода // Беременность и экстрагенитальная патология.— Алма-Ата, 1985.— С. 84—85.
7. Лященко К. П., Голованова Т. А., Бобровник С. А. К механизму формирования стимулирующей антителообразующей способности костномозговых клеток мышей иммунизированных стафилококком // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— № 8.— С. 194—197.
8. Медунин Н. В. Повышенная чувствительность замедленного типа.— М.: Наука, 1983.— 160 с.
9. Суслов А. П., Черноусов А. Д. Упрощенная модификация метода подавления миграции макрофагов у мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1979.— № 8.— С. 236—237.
10. Фарбер Н. А. Болезнь Боткина и беременность.— М.: Медицина, 1970.— 188 с.
11. Фролов Б. А., Филиппов В. К., Меерсон Ф. З. Активирующее влияние стрессорного воздействия на формирование гиперчувствительности замедленного типа у мышей // Иммунология.— 1985.— № 2.— С. 39—41.
12. Черноусов А. Д., Юрин Б. Л. Выделение Т-супрессоров, аффинных к антигену, и их взаимодействие с эффекторами гиперчувствительности замедленного типа в различных экспериментальных условиях // Иммунология.— 1982.— № 1.— С. 13—16.
13. Черняховская И. Ю., Лядова И. В., Фонталин Л. Н. Реакция гиперчувствительности замедленного типа к аллоантигенам у мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1984.— № 6.— С. 706—708.
14. Lagrange P. H., Mackaness G. B., Miller T. E. Influence of dose and route of antigen injection on the immunological induction of T cells // J. Exp. Med.— 1974.— 139, N 3.— P. 528—542.

Челябин. мед. ин-т

М-ва здравоохранения РСФСР

Материал поступил
в редакцию 10.07.89

УДК 616.36—002.2—008.853—08

Г. В. Брюхин, А. Ю. Грачев

Фагоцитарная активность моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов у потомства животных с экспериментальным хроническим поражением печени

В литературе имеются немногочисленные сведения о том, что дети матерей с хроническими поражениями печени предрасположены к различным инфекционным заболеваниям [1, 4, 5, 8]. На сегодняшний день является общепризнанным, что в формировании специфических реакций иммунитета, гуморального и клеточного типов, а также неспецифической резистентности организма, важную роль играет система мононуклеарных фагоцитов [7, 9].

Целью наших исследований явилось изучение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов потомства крыс с хроническим экспериментальным аутоиммунным поражением печени.

Методика

В работе использованы белые крысы линии Вистар, полученные из питомника «Рапполово». Модель хронического экспериментального аутоиммунного поражения печени создавалась длительной иммунизацией животных гомологичным антигеном печени [2]. Всего исследовано 70 животных контрольной и 85 опытной групп в ранние сроки постнатального периода онтогенеза (на 1-е, 15-е, 30-е и 45-е сутки). Исследования про-

© Г. В. БРЮХИН, А. Ю. ГРАЧЕВ, 1990.

дили в весенний период (март — май) с учетом суточных колебаний. В качестве фагоцитов в работе использовали моноциты периферической крови и макрофаги брюшной полости экспериментальных животных. Моноциты выделяли, используя градиент плотности фиколла — верографина, а суспензию клеток брюшной полости — ее промыванием культуральной средой.

Во всех случаях предварительно проводили подсчет в камере Горяева числа кардиоцитов, а также их жизнеспособности с помощью 0,2 %-ного раствора трипанового синего.

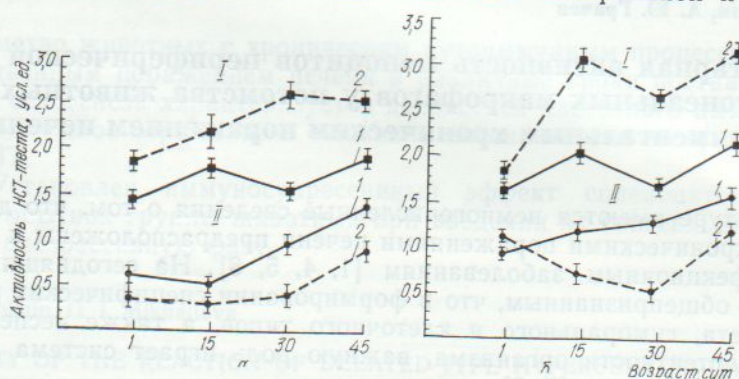
Согласно классическим постулатам И. И. Мечникова, фагоцитоз включает прежде всего поглощение и переваривание. В связи с этим фагоцитарную функцию мононуклеаров мы изучали по их способности к захвату и перевариванию микроорганизмов. В качестве объекта фагоцитоза использовали живые суточные культуры. Поглотительную и бактерицидную функции макрофагов мы изучали одновременно по методу Гордиенко [3], основанному на прижизненном флюорохромировании акридиновым оранжевым. Одновременно определяли интенсивность фагоцитоза (число фагоцитов), фагоцитарный индекс (число поглощенных микробов одним фагоцитом) и киллинг (число убитых микроорганизмов) моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов.

Функционально-метаболическую активность изучаемых мононуклеаров, отражающую бактерицидный потенциал, оценивали тестом спонтанного и стимулированного восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) по Park и соавт. [10]. Стимуляцию проводили с помощью инертных частиц латекса (диаметр 1,2 мкм). Клетки инкубировали в 0,05 %-ном растворе НСТ в течение 30 мин при 37 °С во влажной камере. Результаты НСТ-теста оценивали в условных единицах (усл. ед.) по Астальди и Верга.

Результаты и их обсуждение

Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение, что у потомства матерей с хроническим экспериментальным аутоиммунным поражением печени нарушается функциональное состояние моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов.

Как видно из таблицы, с возрастом, в начале постнатального периода онтогенеза, число фагоцитов среди моноцитов и макрофагов брюшной полости у экспериментальных животных контрольной и опытной



Функционально-метаболическая активность моноцитов периферической крови (а) и перитонеальных макрофагов (б) у потомства крыс с непораженной печенью (I) и крыс с хроническим экспериментальным аутоиммунным поражением печени (II) по результатам теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ):
1 — спонтанного, 2 — стимулированного.

групп заметно увеличивается. Однако интенсивность фагоцитоза на всех сроках исследования у контрольной группы животных несколько превышает таковую у опытных. Вместе с тем, фагоцитарная активность (фагоцитарный индекс) также оказалась на всех сроках исследования у контрольных животных выше, чем у опытной группы. Кроме того, обращает на себя внимание, что у контрольных животных фагоцитарный индекс у перитонеальных макрофагов почти на всех сроках исследования значительно выше, чем у моноцитов. У контрольных животных пе-

реваривающая способность (киллинг) моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов в отношении *St. aureus* (P209) в начале постнатального периода онтогенеза изменяется незначительно. В то же время, бактерицидная активность изученных мононуклеаров у опытной группы животных с возрастом несколько снижается по сравнению с периодом новорожденности.

Характеристика фагоцитарной способности моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов у потомства крыс с непораженной печенью (контроль) и крыс с хроническим экспериментальным аутоиммунным поражением печени (опыт)

Показатель фагоцитарной способности	Возраст животного			
	1 сут		15 сут	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Интенсивность фагоцитоза, число фагоцитов				
в моноцитах	87,6±0,56	79,0±1,7	87,0±0,53*	85,0±1,09
в макрофагах	91,33±0,62	78,75±0,28	91,0±0,18	86,6±0,3
Фагоцитарный индекс, число поглощенных микробов одним фагоцитом:				
в моноцитах	4,45±0,16	3,9±0,08	2,78±0,04	1,74±0,03
в макрофагах	4,95±0,26	3,0±0,2	3,72±0,02	1,77±0,03
Киллинг, число убитых микробов:				
в моноцитах	73,68±1,3	40,15±5,59	76,62±2,2	24,49±1,2
в макрофагах	72,97±0,97	29,88±1,37	53,44±0,89	22,52±0,32
Показатель фагоцитарной способности	Возраст животного			
	30 сут		45 сут	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Интенсивность фагоцитоза, число фагоцитов				
в моноцитах	96,0±0,9	85,3±1,7	96,0±0,22	90,0±0,24
в макрофагах	98,67±0,34	85,3±1,22	94,67±0,3	87,0±0,44
Фагоцитарный индекс, число поглощенных микробов одним фагоцитом:				
в моноцитах	3,4±0,09	2,18±0,12	3,53±0,12	1,66±0,02
в макрофагах	7,5±0,89	2,12±0,04	3,44±0,07*	3,43±0,35
Киллинг, число убитых микробов:				
в моноцитах	64,7±1,0	19,83±1,5	75,28±2,73	28,03±1,2
в макрофагах	69,2±0,85	22,6±0,89	72,54±0,9	24,0±1,23

* Различия значений по отношению к контрольным не достоверны ($P > 0,05$).

Изучение способности этих клеток восстанавливать нитросиний тетразолий позволило выявить ту же закономерность. Как видно из рисунка, в моноцитах периферической крови и перитонеальных макрофагах опытной группы животных, по сравнению с контрольной, интенсивность спонтанного НСТ-теста значительно снижена. Вместе с тем, обращает на себя внимание, что на всех сроках исследования потомство контрольной группы животных характеризуется усилением реакции стимулированного НСТ-теста. В опытной группе животных отмечается на всех сроках исследования ослабление реакции стимулированного НСТ-теста, что указывает, на наш взгляд, на низкий потенциал компенсаторных возможностей фагоцитов.

Следовательно, полученные результаты позволяют сделать заключение, что снижение поглотительной и бактерицидной активностей моноцитов периферической крови и макрофагов брюшной полости у потомства матерей с хроническим экспериментальным аутоиммунным поражением печени происходит на фоне угнетения окислительного

метаболизма и говорит, на наш взгляд, о наличии в их организме супрессивного влияния на мононуклеарные фагоциты либо об угнетении функционально-компенсаторных возможностей последних.

Таким образом, напрашивается вывод, что у потомства животных с хроническим экспериментальным аутоиммунным поражением печени происходит угнетение поглотительной, метаболической и, особенно, бактерицидной функций моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов.

G. V. Bryukhin, A. Yu. Grachev

PHAGOCYTIC ACTIVITY OF THE PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES AND PERITONEAL MICROPHAGES IN THE OFFSPRING OF THE ANIMALS WITH EXPERIMENTAL CHRONIC LIVER AFFECTION

Peripheral blood monocytes and peritoneal macrophages (phagocytic index, phagocytosis intensity, metabolic level) in the offspring of mice with chronic experimental autoimmune liver affection have been studied for different parameters of their phagocytic properties.

The obtained results testify to absorption and bactericidal activity disturbance of mononuclears studied in this group of animals.

Medical Institute, Ministry of Public Health
of the RSFSR, Chelyabinsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андрущук А. А., Казмирчук В. Е., Леонтович Н. А. Роль антенатальной патологии в становлении иммунитета детей раннего возраста // Антенатальная охрана и профилактика перинатальной патологии. — Киев, 1979. — С. 14—15.
2. Брюхин Г. В., Михайлова Г. И. Антителообразующая способность клеток селезенки потомства самок крыс с хроническим поражением печени // Физиол. журн. — 35, № 2. — С. 97—100.
3. Гордиенко С. М. Одновременное изучение функциональной активности макрофагов и нейтрофилов кожного экссудата в клинических условиях // Иммунология. — 1983. — № 2. — С. 84—87.
4. Закиров И. З. Беременность и плод при болезни Боткина. — Ташкент: ФАН (Наука), 1973. — 137 с.
5. Закревский А. А. Беременность и роды при хронических заболеваниях печени и желчных путей // Антенатальная охрана плода и профилактика перинатальной патологии. — Киев, 1979. — С. 98—99.
6. Иммунологические методы // Под ред. Г. Фримеля — М.: Медицина, 1987. — 472 с.
7. Маянский Д. Н. Клетка Купфера и система мононуклеарных фагоцитов. — Новосибирск: Наука, 1981. — 172 с.
8. Мурзалиева Х. М., Кусаинова Г. Беременность и болезнь Боткина. — Алма-Ата: Наука, 1965. — 180 с.
9. Фрейдлих И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. — М.: Медицина, 1984. — 272 с.
10. Park B. H., Fikrig S. M., Smithwick E. M. Infection and nitrobluetetrazolium reduction by neutrophils // Lancet. — 1968. — 2. — P. 532—534.

Челябин. мед. ин-т
М-ва здравоохранения РСФСР

Материал поступил
в редакцию 28.01.90

УДК 612.115.1:616.61—089.843

Е. И. Кримкевич

Калликреин-кининовая система почечного аллотрансплантата

Этиологическим фактором острой реакции отторжения пересаженной почки, является иммунный конфликт, который может привести к активации калликреин-кининовой системы (ККС) [3, 10]. Изменения же

© Е. И. КРИМКЕВИЧ, 1990.

активности ККС, тесно связанной со свертывающей и фибринолитической системами [1, 4], могут обусловить сдвиги в этих системах и последующие нарушения в капиллярном русле трансплантата, влияющие на его функцию.

Состоянию ККС трансплантата посвящены немногочисленные исследования, которые касаются, в основном, почечной экскреции калликреина [11, 16]. Практически нет сведений о других компонентах системы, особенно на ранних этапах формирования острой реакции отторжения, когда ее клинические проявления не наблюдаются или слабо выражены.

Цель нашей работы — изучение показателей ККС почечного трансплантата в ранние сроки формирования его отторжения.

Методика

Модель аллотрансплантации (анастомоз *v. renalis* донора с *v. renalis* реципиента по типу «конец в конец») воспроизводили на крысах. Контралатеральную почку удаляли. Эксперимент проведен на 10 животных. Исследования ткани почки (раздельно коркового и мозгового слоев) и мочи проводили до трансплантации и на 4-е, 8-е и 12-е сутки после нее. В эти же сроки определяли содержание креатинина в плазме крови и экскрецию его с мочой. Все показатели в моче рассчитывали на экскретируемый креатинин, а в ткани — на 1 г сырой ткани и 1 мг тканевого белка. О кинингенерирующем звене ККС судили по протаминрасщепляющей активности (ПРА) и активности α_1 -ингибитора протеиназ, об этапе деградации кининов — по активности кининазы II. Кроме того, в моче определяли также эстеразную активность калликреина. Эстеразную и антиэстеразную активности определяли по результату расщепления БАЭЭ [6, 8], антипротеолитическую — казеина [1], протаминрасщепляющую — по методу Веремеенко [1]. Чтобы выделить вклад в протаминрасщепляющую активность других протеиназ (исключая калликреин), параллельно определяли суммарную протеолитическую активность по расщеплению казеина [2], который гидролизует трипсином, урокиназой и другими трипсиноподобными протеиназами, но не гидролизует калликреином. Активность кининазы II определяли по содержанию гистидиллейцина, отщепленного от С-концевого трипептида ангиотензина I [7]. Содержание креатинина определяли с помощью цветной реакции Яффе [9]. Математическую обработку результатов осуществляли с применением критерия *t* Стьюдента.

В дни опыта животные находились в клетках, приспособленных для изучения обмена веществ. Пищевой рацион и двигательный режим были без особенностей.

Результаты и их обсуждение

У интактных животных ПРА в кортикальном слое почки была значительно выше, чем в медуллярном (где обнаруживали лишь ее следы). После пересадки на 4–12-е сутки функционирования трансплантата ПРА в корковом слое возрастала вдвое — от $(92 \cdot 10^{-4} \pm 16,0 \times 10^{-4})$ мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ до $(180 \cdot 10^{-4} \pm 16,8 \cdot 10^{-4})$, а в медуллярной — в десятки раз $(5 \cdot 10^{-4} \pm 0,2 \cdot 10^{-4})$ и $(150 \cdot 10^{-4} \pm 43,7 \cdot 10^{-4})$ соответственно, $P_t < 0,01$. Это нарастание ПРА было пропорционально срокам функционирования трансплантата.

Параллельное исследование общей протеолитической активности ткани почки при воздействии на казеин выявило достоверное снижение этой активности в корковом слое почки-трансплантата и оставшуюся без изменения — в медуллярном слое. Антипротеолитическая активность в кортикальном слое повышалась, причем в наибольшей мере на 4-е сутки после трансплантации, когда она составила $3,48 \pm 0,315$ мкг/мг при норме $1,66 \pm 0,308$ ($P_t < 0,05$). В медуллярном слое это изменение было выражено меньше.

Антиэстеразная активность α_1 -ингибитора протеиназ возрастала и в корковом слое (от $13,5 \pm 1,21$ ИЕ/г до $47,6 \pm 2,75$ ИЕ/г, $P_t < 0,01$), и в медуллярном (от $14,1 \pm 3,39$ до $61,6 \pm 2,91$, $P_t < 0,01$). Возрастание ингибиторной активности оставалось одинаковым в течение всего эксперимента.

У интактных крыс кининазная активность в расчете на массу ткани в различных слоях почки практически не различалась, а в расчете на тканевую белок была выше в медуллярном слое. В аллотрансплантате ее особенно выраженный рост отмечали в самые ранние сроки после пересадки почки (4-е сутки) как в корковом ($41,6 \text{ мкмоль/г} \pm 2,26 \text{ мкмоль/г}$ при норме $22,3 \pm 2,14$, $P_t < 0,01$), так и в мозговом слое ($60,2 \pm 9,62$ при норме $21,4 \pm 4,11$, $P_t < 0,01$).

У крыс с почечным аллотрансплантатом снижалась экскреция креатинина (от $75,8 \cdot 10^{-3} \pm 4,66 \cdot 10^{-3}$ в контроле до $48,7 \cdot 10^{-3} \text{ моль/сут} \pm 6,17 \cdot 10^{-3} \text{ ммоль/сут}$ после трансплантации, $P_t < 0,01$). Значительно уменьшалось также выделение калликреина, определявшееся по его БАЭЭ-эстеразной активности. У реципиентов почечных трансплантатов суточная экскреция калликреина составила $13,3 \text{ кЕ/сут} \pm 1,89 \text{ кЕ/сут}$ (в контроле $40,9 \pm 5,00$, $P_t < 0,01$), а в расчете на экскретируемый креатинин — $267,6 \pm 32,56$ (в контроле $900,3 \pm 118,08$, $P_t < 0,05$).

В то же время экскреция калликреина, определявшаяся по гидролизу им протаминасульфата, имела небольшую тенденцию к увеличению в расчете на креатинин ($37,7 \pm 6,8$ при базальном уровне $29,1 \text{ мкмоль} \pm 4,71 \text{ мкмоль}$) и увеличивалась в расчете на диурез ($1,94 \pm 0,232$ и $1,0 \text{ мкмоль/сут} \pm 0,14 \text{ мкмоль/сут}$ соответственно, $P_t < 0,01$). При этом не возрастала общая протеолитическая активность мочи.

После пересадки почки отмечали более чем четырехкратное возрастание в моче антиэстеразной и антипротеолитической активности. Увеличивалась и кининазная активность. Крысы-реципиенты выделяли почти вдвое больше кининазы II, чем интактные крысы ($8,7 \pm 0,90$ и $4,8 \text{ ед/сут} \pm 0,57 \text{ ед/сут}$ соответственно, $P_t < 0,01$).

Пусковым механизмом, приводящим к отторжению трансплантационного органа, является иммунный конфликт между организмом реципиента и трансплантатом, развивающийся вследствие тканевой несовместимости. В наших наблюдениях в сроки 4—12 сут после аллотрансплантации почки у крыс еще не развивались клинические признаки острой реакции отторжения трансплантата: у животных была умеренная гиперкреатининемия и сниженная, но сохраненная функция почечной экскреции воды и креатинина. Эти результаты совпадают с данными, полученными Gibbons и соавт. [13] в аналогичном эксперименте. Каковы же в эти сроки изменения локальной ККС? Литература ответа на этот вопрос не дает.

В результате наших экспериментов мы не обнаружили в трансплантатах увеличения общей протеолитической активности, что свидетельствует о том, что активность урокиназы, трипсина и других протеиназ в ткани отторгающейся почки не повышалась. Исходя из этого, можно полагать, что увеличение ПРА, обнаруженное нами в корковом и медуллярном слоях почки, связано с гиперсинтезом калликреина. Характерно то, что повышение продукции калликреина отмечено уже на 4-е сутки функционирования трансплантата. Параллельно усилению продукции калликреина повышается преимущественно антиэстеразная активность, антипротеолитическая — возрастает незначительно.

Таким образом, существует контролируемая активация ККС, когда возрастает и активаторный, и ингибиторный потенциалы системы. Обнаруженные изменения больше выражены в медуллярном слое, что, возможно, связано с особенностями локального кровотока и является компенсаторно-адаптационным механизмом, способствующим поддержанию локальной гемодинамики и функции.

Реализация эффектов кининов зависит от их продукции и деградации. В трансплантационных почках на 4-е сутки после пересадки выявили значительное повышение кининазной активности. В последующие сутки она, хотя и оставалась повышенной, но все же на 8—12-е сутки была ниже, чем на 4-е. В то же время увеличение продукции калликреина, кининпродуцирующего фермента, продолжалось пропорционально срокам наблюдений, т. е. в более поздние сроки потенциально

создаются условия меньшего ограничения патофизиологического действия кининов.

В то же время повышение кининазной активности способствует интенсивному образованию ангиотензина II, который как один из факторов ауторегуляции почечной функции в результате уменьшения перфузионного давления способствует снижению клубочковой фильтрации [2], что и отмечалось нами у крыс-реципиентов.

В наших исследованиях экскреция калликреина с мочой, определявшаяся по его БАЭЭ-эстеразной активности, была снижена, что соответствует данным, представленным другими авторами [11, 14, 17]. Но параллельно мы обнаружили усиление экскреции калликреина, определяемой по расщеплению белкового субстрата.

Отсутствие повышения казеинолитической активности в моче, обнаруженное нами, и снижение экскреции урокиназы при отторжении пересаженной почки, по данным Carlson и соавт. [12], не позволяют отнести это повышение экскреции калликреина за счет трипсиноподобных протеиназ, расщепляющих казеин (калликреин этим свойством не обладает [27]). Протаминрасщепляющий потенциал мочи может частично вырасти за счет сериновых протеиназ, происходящих из иммунокомпетентных клеток [15], однако основной причиной его увеличения, видимо, является усиление синтеза калликреина в почках. В избранные нами сроки, согласно результатам структурного анализа, большинство дистальных канальцев, продуцирующих калликреин, еще сохранено.

Чем же объяснить снижение БАЭЭ-активности мочи? Прежде всего резким возрастанием ингибиторной, антиэстеразной, активности. Вследствие связывания ингибитором ферментная активность не определяется. Антипротеолитическая активность изменяется значительно меньше и меньше блокирует скорость гидролиза калликреином белкового субстрата. Отсюда следует, что для суждения о состоянии ККС *in situ* нужно определять и ферментную, и ингибиторную активности, а также использовать разные по химической природе субстраты. Очевидно также и то, что в ранней стадии патологического процесса, в основе развития которого лежат иммунные механизмы, экскреция калликреина с мочой не отражает его активности в почках.

Имеющая место ренальная активация кининогенеза, наблюдаемая в ранние сроки иммунного конфликта, совпадает с обнаруженным в эти же сроки [13, 15] у крыс-реципиентов почечных трансплантатов усилением локального синтеза тромбоксана B_2 , $ПГЕ_2$ и 6-кето- $ПГЕ_{1\alpha}$. Как известно, кинины активируют синтез простагландинов [1, 5]. Можно полагать, что посредством интенсификации синтеза тромбоксана A_2 в ткани кинины способствуют локальному тромбозу сосудов трансплантата, снижению его перфузии и потенцированию деструкции. Кроме того, ККС действует не только опосредованно, но и непосредственно на перфузионное давление в трансплантате и ухудшение его функции в результате усиления образования ангиотензина II благодаря повышению активности кининазы II.

Исходя из изложенного, можно предположить, что калликреин-кининовая система участвует в патогенезе отторжения аллотрансплантированной почки как медиатор возникающих функциональных и структурных повреждений.

Е. И. Krimkevich

KALLIKREIN-KININ SYSTEM OF RENAL ALLOGRAFT

The parameters of kallikrein-kinin system (KKS) in the renal graft tissue (the cortex and medulla) and urine in 10 rats were investigated 4, 8 and 12 days after transplantation prior to the clinical symptoms of graft rejection. Controllable activation of a kinin-generative link of KKS (more pronounced in the medulla than in the cortex) is found. It manifests itself in growth of the kallikrein activity (in proportion to terms of transplantation) and in an increase of the inhibitor level. Kininase activity is observed to be the highest

on the 4th day, in the medulla the degree of increase being higher than in the cortex. Esterolytic activity of urinary kallikrein is observed to decrease, while its proteolytic activity — to increase. The urinary inhibitory and kininase activities increase. The disturbances in renal graft KKS lead to the local vascular thrombosis, decrease in graft perfusion, worsening of its function and potentiation of graft destruction. The data show that kallikrein-kinin system takes part in pathogenesis of renal graft rejection playing a mediator role in the functional and structural changes.

Institute of Urology and Nephrology,
Ministry of Public Health
of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Веремеенко К. Н. Кининовая система. — Киев : Здоров'я, 1977. — 183 с.
2. Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии. — Там же, 1988. — 20 с.
3. Гомазков О. А. Функциональное значение калликреин-кининовой системы крови в норме и при сердечно-сосудистой патологии : Автореф. докт. дис. д-ра мед. наук. — М., 1977. — 32 с.
4. Гомазков О. А., Комиссарова Н. В. Общие механизмы биохимической регуляции калликреиновой, свертывающей и фибринолитической систем крови // Успехи современной биологии. — 1976. — 82, № 3. — С. 356—370.
5. Данн Д. Ж. (ред.). Почечная эндокринология. — М. : Медицина, 1987. — 667 с.
6. Некрасова А. А., Чернова Н. А., Шарапов У. Б. и др. Уровень калликреина в моче и некоторые показатели функции почек // Урология и нефрология. — 1970. — № 3. — С. 12—16.
7. Павлихина Л. В., Елисева Ю. Е., Поздnev В. Ф. и др. Чувствительный флуориметрический метод определения активности карбоксикапсина (пептидил-дипептидазы) в сыворотке крови человека по трипептиду ангиотензина¹ // Современные методы в биохимии. — М. : Медицина, 1977. — С. 147—150.
8. Нартикова В. Ф., Пасхина Т. С. Определение антитриптической активности в сыворотке крови человека // Там же. — С. 188—191.
9. Тульчинский М. (ред.) Лабораторные методы клинического исследования. — Варшава : Польское госмедиздательство, 1965. — С. 156—158.
10. Чернух А. М., Гомазков О. А. Подходы к оценке патофизиологического значения кининовой системы организма // Кинины и кининовая система крови. — М., 1976. — С. 12—21.
11. Brouhard B. H., Cunningham III R. J., Berger M. et al. Urinary kallikrein excretion in renal transplant patients // Clin. Nephrology. — 1982. — 17, N 5. — P. 241—246.
12. Carlson S., Hedner U., Nilsson G. M. et al. Kidney Transplantation and fibrinolytic split products in serum and urine // Transplantation. — 1970. — 10, N 5. — P. 366—371.
13. Gibbons C. P., Wiley K. N., Lindsey N. J. et al. Prostaglandin synthesis during renal allograft rejection in the rat // Transplantation Proceedings. — 1986. — 18, N 5. — P. 1102—1105.
14. Haruyama T., Abe K., Sat o et al. Urinary kallikrein excretion in kidney allograft recipients: the possible role of the renal nerve in secretion of renal kallikrein // Kinins-III, Proceedings Int. Conf. Kinin, 1981, Munich, 2—5 Nov. — London, New York, 1983. — P. 1011—1015.
15. Hruby Z., Lowry R. P., Forbes R. D. C. et al. Immune mechanisms and molecular mediators of glomerular injury in experimental nephritis: summary of current results and continuing studies // Transplantation Proceedings. — 1986. — 18, N 4. — P. 664—666.
16. Koolen M. J., van Brummelen P., Paul L. C. et al. Excretion of urokallikrein in renal transplant patients. Relation To graft rejection, renal function and blood pressure // Transplantation. — 1984. — 37, N 5. — 471—474.
17. Spragg Jo., Denney D. L., Tilney N. L. et al. Kallikrein excretion in renal transplant recipients and in uninephrectomized donors // Kidney Int. — 1985. — 28, N 1. — P. 75—81.

Киев. науч.-исслед. ин-т урологии и нефрологии
М-ва здравоохранения СССР

Материал поступил
в редакцию 02.08.89

Определение почечного кровотока методом тетраполярной реоплетизмографии

Информация о состоянии почечного кровообращения важна для физиологов и клиницистов, поскольку при подавляющем большинстве заболеваний почек значительную роль играет их сосудистый компонент. Используемые с этой целью инвазивные методики достаточно трудоемки, травматичны и подчас небезопасны. Перспективным методом исследования кровотока в почках может явиться, по нашему мнению, тетраполярная реоплетизмография, широко применяемая в настоящее время для определения сердечного выброса. К реоплетизмографии для изучения гемодинамики почек впервые обратились около 20 лет назад, однако либо использовали биполярную методику [1], либо применяли так называемую прямую реоплетизмографию почек [3], при которой один электрод накладывали на область проекции соответствующей почки, а другой — электрод-катетер — вводили в почечную лоханку, что не только значительно усложняло методику, но и лишало реоплетизмографию, пожалуй, главного ее преимущества — безопасности. Почечный кровоток при этом оценивался косвенно на основе расчета амплитуды реоплетизмограммы, что позволяло судить лишь об относительных его изменениях.

Цель нашей работы — изучение возможности определения абсолютных значений почечного кровотока с помощью метода тетраполярной реоплетизмографии. Учитывая, что одним из основных условий успешного применения метода тетраполярной реоплетизмографии является расположение исследуемого органа в зоне наиболее равномерного распределения силовых линий высокочастотного поля, мы накладывали электроды не дорзально [4], а транскорпорально: одну пару кольцевых электродов располагали в поясничной области, а другую — на передней брюшной стенке в зоне проекции соответствующей почки (рис. 1). Регистрацию реонефрограмм осуществляли с помощью двухканального реоплетизмографа РПГ2-03, позволяющего одновременно регистрировать объемную (Z) и дифференцированную (dZ/dt) реоплетизмограммы правой и левой почек, и поликардиографа «Мингограф-82» на скорости 50 мм/с. Одновременно с реонефрограммами регистрировали фонокардиограмму (ФКГ) для более точного определения периода изгнания крови (рис. 2). При определении количественных значений почечного кровотока мы использовали способ расчета ударного объема крови, предложенный для трансторакальной реоплетизмографии [5]. Количество крови, поступающей из почечной артерии в почку в течение минуты, определяли по формуле

$$ПК = \rho \frac{l^2}{Z^2} \cdot A \cdot T \cdot ЧСС,$$

где ПК — почечный кровоток, мл/мин; ρ — удельное сопротивление крови, составляющее в среднем 135 Ом·см; l — расстояние между электродами, см (см. рис. 1); Z — базисное сопротивление, определя-

емое по шкале реоплетизмографа, Ом; A — амплитуда дифференцированной реонефрограммы, Ом/с; T — период изгнания крови, с; ЧСС — частота сердечных сокращений, рассчитываемая по расстоянию между двумя ближайшими циклами реонефрограммы, мин⁻¹. Способ определения необходимых параметров представлен на рис. 2.

Апробирование предлагаемой методики определения почечного кровотока осуществлено на 20 практически здоровых мужчинах в возрасте от 24 до 38 лет. Показано, что среднее значение кровотока в пра-

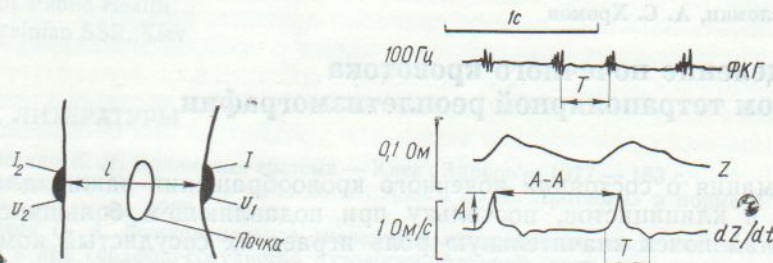


Рис. 1. Схема расположения электродов при тетраполярной ренографии.

Рис. 2. Разметка экспериментальных кривых для расчета почечного кровотока. Объяснения в тексте.

вой почке составляет (564 ± 27) мл/мин, а в левой — (542 ± 26) мл/мин. Представленные результаты хорошо согласуются с данными литературы [2], свидетельствующими о том, что в норме кровотоки в одной почке в среднем составляет 607 мл/мин.

Таким образом, метод тетраполярной реоплетизмографии является достаточно надежным и удобным способом количественной оценки почечного кровообращения. Его можно использовать самостоятельно и в сочетании с трансторакальной реоплетизмографией, что позволяет характеризовать функциональную активность почек, осуществлять диагностику и контроль эффективности проводимой терапии. Простота и доступность метода тетраполярной реоплетизмографии, безопасность для исследуемого, оперативность в получении информации делают его предпочтительным во многих сложных ситуациях.

L. B. Doloman, A. S. Khromov

DETERMINATION OF RENAL BLOOD FLOW BY THE TETRAPOLAR RHEOPLETHYSMOGRAPHY METHOD

The obtained data indicate that tetrapolar rheoplethysmography can provide noninvasive easily repeated measurement of renal blood flow comparable to results obtained while using invasive methods.

A. A. Bogomoletz Institute, Academy of Sciences
of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Колесников Г. Ф., Пирогов В. А., Абрамов Ю. А и др. Изучение с помощью реографии кровенаполнения почек в норме и при нефроптозе // Врачеб. дело. — 1972. — № 5. — С. 40—43.
2. Фолков Б., Нил О. Кровообращение. — М.: Медицина, 1976. — 463 с.
3. Фрейлих В. М., Неймарк А. И. Реография в норме и при некоторых заболеваниях почек // Вопросы хирургии сердца и сосудов. — Барнаул, 1970. — С. 186—197.
4. Allison R., Sanchez M., Langsjoen M. The role of impedance plethysmography in the evaluation of renal vascular hypertension // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1970. — 170, N 2. — P. 768—782.
5. Kubicek W., Patterson R., Witsou D. Impedance cardiography as a noninvasive method of monitoring cardiac function and other parameters of the cardiovascular system // Ibid. — P. 724—732.

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

Материал поступил
в редакцию 15.12.89

УДК 612.017.1

К. П. Лященко

Морфофункциональные взаимоотношения в формировании иммунологической памяти

Одной из форм иммунного ответа является формирование иммунологической памяти (ИП), которая представляет собой обусловленную воздействием антигена способность лимфоидной ткани к развитию ускоренной и (или) усиленной (вторичной, анамнестической) реакции на этот антиген при повторном его проникновении в организм. Согласно современным представлениям [6, 59, 67, 74], выработка ИП при антителообразовании основана на антигензависимой дифференцировке В-лимфоцитов в особую категорию иммунокомпетентных клеток — В-клетки памяти (В-КП), отличающиеся от их предшественников некоторыми структурно-функциональными характеристиками и условиями активации при вторичном иммунном ответе. В нашей работе рассмотрены отличительные особенности В-КП, иммуноморфологические закономерности формирования ИП на разных уровнях организации иммунной системы.

Носителями ИП служат малые В-лимфоциты, которые после активации антигеном не превращаются в антителообразующие клетки (АОК). Они отличаются высокоаффинными рецепторами к антигену [59, 75] и способны при повторной специфической стимуляции трансформироваться в бласты, которые непосредственно или после нескольких делений дифференцируются в плазматические клетки, синтезирующие антитела повышенной аффинности [9, 22]. Установлено, что В-КП мышей, иммунизированных эритроцитами барана (ЭБ), характеризуются сравнительно высокой плавучей плотностью, закономерно изменяющейся при развитии первичного и вторичного иммунных ответов [2]. В ранние сроки после иммунизации большинство В-КП в регионарных лимфатических узлах и лимфе из грудного протока крыс [30, 69] или в селезенке мышей [2] представлены крупными бластами, число которых со временем уменьшается при постепенном увеличении содержания В-КП среди малых лимфоцитов. Уменьшение размеров В-КП, по-видимому, является уже антигеннезависимой стадией их созревания, так как может происходить и без антигена [37].

Высокая авидность антигенсвязывающих рецепторов у В-КП позволила недавно получить их чистую субпопуляцию освобождением пула гаптенспецифических В-лимфоцитов иммунных животных от низкоавидных «девственных» В-клеток при розеткообразовании с гаптен-иммунизированными эритроцитами [59, 75], что в методическом отношении представляется весьма важным для дальнейшего исследования структурно-функциональных особенностей В-КП и механизма их активации.

Популяция В-лимфоцитов гетерогенна не только по специфичности, но и по изотипам мембранных иммуноглобулинов. Поверхностный IgM — основной антигенсвязывающий рецептор зрелых В-лимфоцитов [42] — обнаруживается у всех предшественников АОК, синтезирующих антитела трех основных классов при первичном иммунном ответе [25], тогда как во вторичном ответе участвуют преимущественно В-клетки с поверхностным IgG [55]. При разделении иммунных В-лимфоцитов в градиенте плотности и на клеточном сортере после обработки флюо-

ресцирующими изотипспецифическими антителами показано, что большие (ранние) В-КП несут поверхностный IgM-, а малые — IgG-рецептор [69].

Нефракционированные спленоциты примированных мышей, трансплантированные облученным животным, синтезировали по вторичному типу исключительно IgG-антитела, тогда как чистые субпопуляции IgM- или IgD-несущих В-лимфоцитов, полученные селекцией на клеточном сортере, воспроизводили в организме реципиентов вторичный IgM- и IgG-ответы, а фракция спленоцитов с поверхностным IgG — только IgG-ответ [76]. Удаление IgG-несущих В-клеток из пула нефракционированных спленоцитов иммунных мышей приводило к значительному усилению вторичного адаптивного IgM-ответа [70], что свидетельствует о существовании негативного контроля со стороны IgG-позитивных клеток (или их продуктов) над выражением IgM-памяти.

Установлена определенная взаимосвязь наличия поверхностного IgD и формирования В-КП [31, 70], которая демонстрируется следующими закономерностями: В-лимфоциты взрослых животных, обладающие мембранным IgM, но не имеющие IgD, при антигенной стимуляции не способны трансформироваться в В-КП; дифференцировка IgD-несущих В-лимфоцитов в В-КП сопровождается закономерной утерей этого рецептора; появление способности к формированию ИП у животных в онтогенезе и филогенезе сопряжено с экспрессией IgD на поверхности В-клеток.

В ранние сроки после иммунизации мышей ИП обладали и IgD-позитивные, и IgD-негативные субпопуляции В-лимфоцитов [76]. В этот период преинкубация иммунных спленоцитов с анти-IgD-сывороткой защищала значительную часть В-КП от «радиоактивного самоубийства» при наличии меченого антигена [25]. Вместе с тем, примированные В-лимфоциты, не обладающие поверхностным IgD, в адаптивной системе продуцировали антитела с повышенным сродством к антигену [21], а через 10 нед после первичной иммунизации только IgD-негативные В-клетки селезенки были способны генерировать вторичный адаптивный ответ [36]. Другим исследователям все же удалось обнаружить IgD на поверхности зрелых В-КП, однако в ничтожных количествах по сравнению с IgM [75]. Таким образом, IgD-рецепторы необходимы В-лимфоцитам лишь для запуска дифференцировки последних в В-КП, а затем мембранный IgD постепенно исчезает.

Установлено, что поверхностный рецептор лимфоцитов к третьему компоненту комплемента (С3-рецептор) также причастен к развитию ИП. При сравнительном изучении динамики восстановления облученных животных после трансплантации костного мозга интактных или иммунных доноров комплементарные розеткообразующие клетки выявлялись в селезенках реципиентов, получивших примированные лимфоциты [14]. Яд кобры, инактивируя систему комплемента, подавлял способность к выработке ИП у мышей [46]. Показано, что поверхностный С3-рецептор необходим В-клеткам для эффективного примирования, но не для развития анамнестической реакции после реиммунизации [55]. В отличие от «девственных» В-лимфоцитов на поверхности зрелых В-КП С3-рецептор, подобно мембранному IgD, практически не обнаруживается [52]. Сходные данные получены и в отношении рецепторов к Fc-фрагменту IgG на иммунных В-лимфоцитах, среди которых В-КП, в отличие от В-супрессоров, не имели названного рецептора [8].

Таким образом, при формировании ИП закономерно изменяется набор поверхностных рецепторов на примированных антигеном В-лимфоцитах. Вероятно, от наличия мембранных IgM и IgG зависит их дифференцировка в АОК и класс синтезируемых последними антител при вторичном иммунном ответе, а IgD- и С3-рецепторы, по-видимому, являются маркерами созревания В-КП.

Как известно, в развитии первичного иммунного ответа участвуют три типа клеток: Т- и В-лимфоциты и А-клетки, взаимодействие

которых генетически рестриктировано [3, 7]. Эти фундаментальные положения в принципе справедливы и для реализации ИП [27, 58, 62]. Вместе с тем, клеточные механизмы активации В-КП в условиях антигенной стимуляции характеризуются некоторыми особенностями. Если для превращения первичных В-лимфоцитов в IgG-АОК необходимы Т-хелперы и Т-амплифайеры, то примированные В-клетки способны генерировать вторичный IgG-ответ и без Т-амплифайеров при наличии одного Т-хелперного сигнала [58]. В отличие от «девственных» В-лимфоцитов В-КП могут дифференцироваться в плазмocyты под действием антигена при наличии неспецифического растворимого фактора Т-клеток, стимулированных аллоантигеном [43], и не нуждаются в интерлейкине-2 для выработки антител [50]. Электронно-микроскопическими исследованиями показано, что В-КП вступают в физический контакт с Т-лимфоцитами через «антигенный мостик» значительно быстрее, чем первичные В-клетки, и требуют для этого в 100 раз меньших концентраций антигена [67]. Сообщалось, что иммунные В-лимфоциты могут вовлекаться в продукцию антител даже без антигенной стимуляции при условии их непосредственного соединения с клеточной мембраной Т-хелперов [23]. По мнению авторов этих исследований, взаимодействие антигена с иммуноглобулиновыми рецепторами В-КП не всегда является обязательным условием для их активации. Однако с позиций современных представлений о механизмах индукции иммунного ответа [3, 7] это предположение спорно и нуждается в дополнительных экспериментальных доказательствах.

Вопрос об участии Т-лимфоцитов в индукции В-КП не имеет однозначного решения. С одной стороны, продемонстрирована возможность выработки ИП к Т-зависимым антигенам без Т-клеточной помощи [38] или при иммунизации животных Т-независимыми антигенами [74], а с другой, — показана неспособность мышей с врожденной аплазией тимуса генерировать ИП к ЭБ [44]. В наших исследованиях [1] повторное введение генетически бестимусным мышам корпускулярного антигена стафилококка вызывало выраженную анамнестическую реакцию, которая, однако, по абсолютному значению сильно уступала вторичному ответу фенотипически нормальных мышей контрольной группы. По-видимому, В-КП могут быть индуцированы антигеном без Т-клеточной помощи, которая все же необходима для их последующей реактивации и дифференцировки в АОК при повторной антигенной стимуляции.

Следует отметить, что роль Т-лимфоцитов в формировании и реализации ИП в системе гуморального иммунитета не исчерпывается только вспомогательной функцией в отношении В-КП. Примированные антигеном Т-клетки наряду с В-лимфоцитами и сами могут быть носителями ИП [60], однако их специфичность не совпадает со специфичностью В-КП вследствие распознавания Т- и В-лимфоцитами различных эпитопов в молекуле антигена [67].

Продemonстрирована тесная взаимосвязь локализации антигена в фолликулах периферических лимфоидных тканей, развития в них зародышевых центров (ЗЦ) и формирования ИП [27, 45, 46, 73]. Полагают, что именно ЗЦ являются местом индукции и дифференцировки В-КП [40].

ЗЦ представляют собой светлые зоны лимфоидных фолликулов, состоящие в основном из бластов, больших и средних В-лимфоцитов, большинство из которых не имеет поверхностных IgD и отличается высокой плотностью рецепторов к агглютинуину арахиса [27], что характерно также для В-КП [26, 31]. Этих клеточных образований обычно нет в лимфоидных тканях врожденно бестимусных мышей, но после восстановления тимусной функции у таких животных гистосовместимыми тимocyтами ЗЦ могут появляться в фолликулах, причем одновременно со способностью к выработке В-КП [27]. Наряду с В-лимфоцитами различной зрелости в ЗЦ обнаруживаются единичные Т-клетки с поверхностными маркерами хелперов [66]. Кроме того, среди лимфо-

бластов диффузно расположены отростчатые клетки нелимфоидного ряда — фолликулярные дендритные клетки (ФДК), составляющие характерное только для ЗЦ стромальное микроокружение [39, 40]. Эти клетки отличаются от макрофагов и обладают уникальной способностью: неспецифически (через поверхностные СЗ- и Fc-рецепторы [64]) фиксировать на мембране своих длинных отростков антигенный материал в виде иммунных комплексов и сохранять его в иммуногенной форме без изменений молекулярной массы и специфичности в течение многих месяцев и даже лет [61, 72]. С этим связывают антигенпредставляющую функцию ФДК и их важную роль в продолжительном поддержании гуморального иммунитета [39]. Многочисленные отростки, отходящие от тела ФДК и способные удерживать антиген, представляют собой переплетения тончайших анастомозирующих дендритов с высокоупорядоченной структурой рецепторных сайтов для взаимодействия с иммунными комплексами [71].

Показано, что в первые минуты после внутривенной иммунизации антиген захватывается макрофагами красной пульпы и маргинальной зоны селезенки, затем постепенно перемещается в перифолликулярную область в направлении лимфоидных фолликулов и уже через 18—24 ч обнаруживается на отростках ФДК [72]. Иммуно-электронно-микроскопическими исследованиями установлено, что в транспорте антигена в ЗЦ и ФДК участвуют В-клетки, связывающие иммунные комплексы посредством Fc-рецепторов [35]. Показано, что оптимальные условия для фолликулярной локализации антигена полностью совпадают с таковыми для выработки В-КП [27, 45].

Во время иммуногенеза ФДК представляют антиген имеющим соответствующие рецепторы В-клеткам, которые плотно прилегают к их дендритам, несущим иммунные комплексы [39]. Получив антигенный стимул, такие В-лимфоциты трансформируются в бласты и начинают пролиферировать, что сопровождается рассмотренными выше изменениями набора поверхностных маркеров. Эти процессы осуществляются в пределах ЗЦ, где без достаточного количества Т-хелперов активированные антигеном В-клетки не превращаются в АОК, а переходят в состояние покоя [40]. Затем они продвигаются к перифолликулярному пространству и через маргинальную зону могут выходить в сосудистое русло, пополняя циркулирующий пул зрелых долгоживущих В-КП и обеспечивая, таким образом, генерализованный характер ИП [9].

Повторная иммунизация животных приводит к селективному накоплению циркулирующих В-КП в местах локализации антигена [29]. При введении иммунных спленоцитов иммунизированным в подушечку лапки и затем облученным мышам донорские В-КП концентрировались в дренирующем месте инъекции антигена (но не в контралатеральном) лимфоузле [63]. Воздействия, способствующие односторонней локализации антигена в подколенном лимфатическом узле (пассивная иммунизация реципиентов перед введением антигена в подушечку лапки или активная иммунизация преформированными иммунными комплексами вместо антигена), усиливали миграцию В-КП в регионарный лимфоузел [12]. Показана важная роль иммуноглобулиновых рецепторов В-КП в избирательном их накоплении в лимфоидных тканях, аккумулирующих антиген [49]. Установлено, что только В-КП, но не первичные В-лимфоциты, могут быть активированы антигеном, связанным с ФДК в ЗЦ, с последующей дифференцировкой в АОК [33]. Следовательно, антиген, длительно сохраняющийся на отростках ФДК, служит специфическим индуктором вторичного иммунного ответа, а также своеобразным иммуносорбентом для циркулирующих В-КП, несущих соответствующие мембранные рецепторы [61].

Таким образом, сложные процессы развития ИП в целостном организме обеспечиваются особенностями гистоархитектоники периферических лимфоидных тканей. В-КП формируются в ЗЦ при участии высокоспециализированных антигенпредставляющих ФДК. Иммунные комплексы, фиксированные на отростках ФДК, вызывают пролифера-

цию и дифференцировку В-КП, а также регулируют соотношение между «резидентной» и «циркулирующей» в организме ИП.

При внутривенном введении антигена индукция В-КП подобно плазмочитарной реакции происходит в основном в селезенке [13, 65]. Однако после выхода в сосудистое русло они заселяют и другие лимфоидные органы [19]. При вторичной иммунизации животных отмечалось накопление АОК по вторичному типу, кроме селезенки, в лимфатических узлах [29], костном мозгу [13, 47], пейеровых бляшках и других отделах системы местного иммунитета [20], а также в печени [24]. Кроме того, при антигенной стимуляции лимфоидных клеток вне организма В-КП выявлены также в тимусе примированных кроликов [19, 65]. Авторы этих исследований считают вилочковую железу важным резервуаром покоящихся В-КП, готовых при необходимости выйти в сосудистое русло, а отсутствие вторичного ответа в тимусе *in vivo* они объясняют недостижимостью локализованных здесь В-КП для антигенного стимула из-за гематотимического барьера.

Морфологическим субстратом формирования ИП в системе местного иммунитета служат лимфоидные клетки и их скопления, ассоциированные со слизистыми оболочками. После их активации в пейеровых бляшках при адекватной антигенной стимуляции В-лимфоциты мигрируют в другие лимфоидные органы [11, 41], способствуя, таким образом, интеграции местных и системных иммунных реакций.

У человека и некоторых видов животных главным местом синтеза сывороточных иммуноглобулинов является костный мозг [17, 18]. Продукция антител в костномозговой ткани показана в многочисленных экспериментах на мелких и крупных лабораторных животных [19, 32, 47], птицах [51], а также при обследовании здоровых людей [48] и пациентов с аутоиммунными заболеваниями [10].

Отличительной особенностью антителообразования в костном мозгу является существенное усиление данного процесса после повторной или многократной иммунизации [18, 47], что указывает на участие этого органа в реализации ИП. Первичный иммунный ответ на Т-зависимый антиген у мышей обычно не сопровождается продукцией антител в костном мозгу [56], однако при реиммунизации животных здесь обнаруживается значительное число АОК, причем более продолжительное время, чем в селезенке [47].

Иммуногистохимическими исследованиями показано равномерное распределение АОК в костномозговой ткани животных [32]. Не выявлено различий содержания АОК в клеточных гомогенатах костного мозга из разных костей двукратно иммунизированных мышей [15].

Полагают, что способность костного мозга примированных животных к антителообразованию по вторичному типу обусловлена репулацией этой ткани В-КП, которые эмигрировали из периферических лимфоидных органов. Об этом свидетельствуют результаты экспериментов с применением спленэктомии, парабиотического соединения мышей или трансплантации радиомеченых примированных лимфоцитов [5, 16, 32, 47]. Наличие В-КП в костномозговой ткани иммунизированных животных продемонстрировано также в опытах по адоптивно-му переносу клеток костного мозга облученным реципиентам [5, 57].

Установлено, что В-КП, возникающие в пейеровых фолликулах при пероральном примировании мышей ЭБ, мигрируют затем в костный мозг, где могут пролиферировать и превращаться в IgA-АОК после парентеральной реиммунизации животных [11]. Эти данные позволили авторам рассматривать костный мозг как важное звено в механизме генерализованных защитных реакций системы местного иммунитета, общей для всех слизистых оболочек организма.

Следует отметить, что в отличие от лабораторных животных костный мозг человека имеет некоторые морфологические особенности, характерные для периферических лимфоидных тканей. В частности, при гистологическом исследовании пунктатов человеческого костного мозга обнаружены типичные лимфоидные фолликулы с ЗЦ [28, 54]. Поэтому

не исключено, что клеточные механизмы антителообразования в костном мозгу человека отличаются от описанных у мышей. В связи с этим необходимо относиться осторожно к приводимым выше данным, полученным в экспериментах на мышах, при их экстраполяции на организм человека. Практические аспекты ИП многообразны и многие из них уже обсуждались нами ранее [3а] в обзорных работах по проблеме ИП.

В заключение подчеркнем важный практический аспект проблемы ИП, касающийся участия костного мозга в ее реализации. Одной из актуальных и нерешенных задач современной трансплантологии является восстановление иммунологической реактивности реципиентов костного мозга, подвергнутых иммунодепрессивной терапии с целью предупреждения весьма частых в этих случаях инфекционных осложнений [53]. В связи с этим представляют интерес результаты наших исследований [4, 5], в которых трансплантация сингенных или полуаллогенных клеток костного мозга, полученных от иммунизированных корпускулярным антигеном стафилококка мышей, облученным и необлученным реципиентам сопровождалась адоптивным переносом ИП. Во многом совпадающие результаты получены в экспериментах на собаках, иммунизированных ЭБ [34]. Наконец, недавно сообщалось об успешном переносе специфического иммунитета больному — реципиенту костного мозга от донора, вакцинированного столбнячным анатоксином [68].

Из приведенных данных следует, что принципиально возможна иммунологическая защита реципиента в период подавленной иммунореактивности трансплантацией костного мозга, содержащего В-КП. Практическому осуществлению этого весьма перспективного подхода, а также решению других задач иммунопрофилактики, иммунотерапии и иммунокоррекции будут способствовать дальнейшие исследования молекулярно-клеточных механизмов и морфологических основ развития и регуляции иммунных реакций организма, в том числе и формирования иммунологической памяти.

K. P. Lyashchenko

MORPHOFUNCTIONAL RELATIONS IN THE IMMUNOLOGICAL MEMORY FORMATION

Data available in literature on immunomorphological aspects of the immunological memory formation are summarized. Features of B memory cells and mechanisms of their activation are analyzed. Relations between antigen localization in the lymphoid follicles, the formation of virgin centres there and induction of B memory cells and organs of the immune system in the immunological memory are discussed.

A. V. Palladin Institute of Biochemistry,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бобровник С. А., Лященко К. М. Иммунный ответ на стафилококк у мышей с врожденным отсутствием тимуса // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1986.— № 5.— С. 57—59.
2. Калинин А. Г., Пинегин Б. В., Орлов Э. В. и др. Распределение В-супрессоров и В-клеток памяти во фракциях клеток селезенки иммунных мышей, различающихся по скорости седиментации // Иммунология.— 1986.— № 2.— С. 31—34.
3. Кульберг А. Я. Регуляция иммунного ответа.— М.: Медицина, 1986.— 224 с.
- 3а. Лященко К. П. Механизмы регуляции иммунологической памяти // Физиол. журн.— 1988.— 34, № 3.— С. 101—108.
4. Лященко К. П., Голованова Т. А., Бобровник С. А. Влияние клеток костного мозга примированных доноров на иммунный ответ // Иммунология.— 1986.— № 4.— С. 73—75.
5. Лященко К. П., Голованова Т. А., Бобровник С. А. К механизму формирования стимулирующей антителообразование способности костномозговых клеток мышей, иммунизированных стафилококком // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— № 8.— С. 194—197.

6. Першин С. Б., Пинегин Б. В., Халатян Н. А., Коришонов В. М. Клеточные основы иммунологической памяти // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.— 1977.— № 6.— С. 3—11.
7. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Атауллаханов Р. И. Иммуногенетика и искусственные антигены.— М.: Медицина, 1983.— 256 с.
8. Пинегин Б. В., Калинин А. Г., Карсонова М. И. Распределение В-супрессоров и В-клеток памяти в FcR⁺- и FcR⁻-популяциях клеток селезенки иммунных мышей // Иммунология.— 1985.— № 5.— С. 38—40.
9. Фонталин Л. Н. Иммунологическая реактивность лимфоидных органов и клеток.— Л.: Медицина, 1967.— 210 с.
10. Alley C. D., Nash G. S., MacDermott R. P. Marked in vitro spontaneous secretion of IgA by human rib bone marrow mononuclear cells // J. Immunol.— 1982.— 128, N 6.— P. 2604—2608.
11. Alley C. D., Kiyono H., Mcghee J. R. Murine bone marrow IgA responses to orally administered sheep erythrocytes // Ibid.— 1986.— 136, N 12.— P. 4414—4419.
12. Baine Y., Ponzio N. M., Thörbecke G. J. Transfer of memory cells into antigenpretreated hosts. II Influence of localized antigen on the migration of specific memory B cells // Eur. J. Immunol.— 1981.— 11, N 12.— P. 990—996.
13. Barron P., Berry M., Richter M. Cells involved in the immune response // Clin. Immunol. and Immunopathol.— 1986.— 39, N 2.— P. 256—263.
14. Baum L. L., Miller H. S. Development of complement receptors on B lymphocytes derived from normal and memory marrow stem cells // Fed. Proc.— 1975.— 34,— N 3.— P. 999.
15. Benner R., van Oudenaren A. Antibody formation in mouse bone marrow. VI The regulating influence of the spleen on the bone marrow plaque-forming cell response to Escherichia coli lipopolysaccharide // Immunology.— 1977.— 32, N 4.— P. 513—519.
16. Benner R., van Oudenaren A., de Ruiter H. Antibody formation in mouse bone marrow. VIII Dependence on potentially circulating memory cells: a study with parabiotic mice // Cell. Immunol.— 1977.— 33, N 2.— 268—276.
17. Benner R., Hijmans W., Haaijman J. J. The bone marrow: the major source of serum immunoglobulins, but still a neglected site of antibody formation // Clin. and Exp. Immunol.— 1981.— 46, N 1.— P. 1—8.
18. Benner R., van Oudenaren A., Björklund M., Ivars F. «Background» immunoglobulin production: measurement, biological significance and regulation // Immunology. Today.— 1982.— 3, N 9.— P. 243—249.
19. Berry M., Barron P., Richter M. Cells involved in the immune response // Clin. Immunol. and Immunopathol.— 1986.— 40, N 3.— P. 456—465.
20. Bienenstock J., Befus A. D. Mucosal immunology // Immunology.— 1980.— 41, N 2.— P. 249—270.
21. Black S. J., Tokuhisa T., Herzenberg L. D., Herzenberg L. A. Memory B. cell at successive stages of differentiation: expression of surface IgD and capacity for self renewal // Eur. J. Immunol.— 1980.— 10, N 11.— P. 846—851.
22. Bosman C., Feldman J. D. Cytology of immunologic memory. A morphologic study of lymphoid cells during the anamnestic response // J. Eur. Med.— 1968.— 128, N 2.— P. 293—304.
23. Cammisuli S., Henry C. Role of membrane receptors in the induction of an in vitro secondary anti-hapten response // Eur. J. Immunol.— 1978.— 8, N 9.— P. 662—666.
24. Carter L., Barrington P. J., Cooper G. N., Jackson G. D. F. Immunologic memory to phosphorylcholine in vitro // Int. Arch Allergy and Appl. Immunol.— 1987.— 82, N 3.— P. 153—158.
25. Coffman R. L., Cohn M. The class of surface immunoglobulin on virgin and memory B lymphocytes // J. Immunol.— 1977.— 118, N 5.— P. 1806—1815.
26. Coico R. F., Thorbecke G. Z. Role of germinal centers in the generation of B cell memory // Folia microbiol.— 1985.— 30, N 3.— P. 196—202.
27. Coico R. F., Bhogal B. S., Thorbecke G. J. Relationship of germinal centers in lymphoid tissue to immunologic memory // J. Immunol.— 1983.— 131, N 5.— P. 2254—2257.
28. Duhamel G. Les nodules lymphoïdes de la moelle osseuse // Presse Medicale.— 1968.— 76, N 41.— P. 1947—1950.
29. Emeson E. E. The lymph node. An important site of antigen-induced recruitment of circulating lymphocytes // N. Y. State J. Med.— 1983.— 83, N 6.— P. 823—828.
30. Feldbush T. L., Stewart N. Antigen modulation of the immune response // Cell. Immunol.— 1978.— 37, N 2.— P. 336—348.
31. Frank K.—H., Conrad K., Thiele B. Das Immunoglobulin D — neuere erkenntnisse zur struktur und funktion // Allergie und Immunol.— 1985.— 31, N 3.— P. 157—162.
32. Geldof A. A., Rimmelzma G. F., Langevoort H. L. Histology of the bone marrow antibody response // Virchow's Arch. Art. B.— 1983.— 44, N 1.— P. 65—72.
33. Gray D., MacLennan I. C. M., Lanc P. J. L. Virgin B cell recruitment and the lifespan of memory clones during antibody response to 2,4-dinitrophenyl-hemocyanin // Eur. J. Immunol.— 1986.— 16, N 6.— P. 6.— P. 641—648.
34. Grosse-Wilde H., Krumbacher K., Schünning F. et al. Immune transfer studies in canine allogeneic marrow graft donor—recipient pairs // Transplantation.— 1986.— 42, N 1.— P. 64—67.
35. Heinen E., Braun M., Coulie P. G. et al. Transfer of immune complexes from lymphocytes to follicular dendritic cells // Eur. Immunol.— 1986.— 16, N 2.— P. 167—172.
36. Herzenberg L. D., Black S. I., Tokuhisa T., Herzenberg L. A. Memory B. cells at suc-

- cessive stage of differentiation // *J. Exp. Med.*—1980.—151, N 5.—P. 1071—1087.
37. Hobbs M. V., Feldbush T. L. Antigen modulation of the immune response // *Cell. Immunol.*—1980.—50, N 1.—P. 30—40.
38. Hosokawa T., Amagai T., Muramatsu S. Studies on B-cell memory // *Immunology.*—1979.—38, N 2.—P. 283—289.
39. Humphrey J. H. Micro-environments in lymphoid tissue // *The immune system.* Eds: C. M. Steinberg, I. Lefkovits.—London, 1981.—vol. 1. P. 349—355.
40. Humphrey J. H. The function and origin of follicular dendritic cells // *Folia microbiol.*—1985.—30, N 3.—P. 184—190.
41. Jeurissen S. H. M., Claassen E., van Rooijen N., Kraal G. Intra-intestinal priming leads to antigen-specific IgA memory cells in peripheral lymphoid organs // *Immunology.*—1985.—56, N 3.—P. 417—423.
42. Kanowicht-Klein S., Vitetta E. S., Korn E. L., Ashman R. F. Antigen — induced changes in the proportion of antigen — binding cell expression IgM, IgG, and IgD receptors // *J. Immunol.*—1979.—122, N 6.—P. 2349—2355.
43. Kemshead J. T., Askonas B. A. Thymus dependence of the IgG response // *Immunology.*—1979.—37, N 3.—P. 603—608.
44. Kindred B. T. Cell functions in nude mice: lack of secondary antibody response in vivo // *Exp. Cell. Biol.*—1984.—52, N 1—2.—P. 17—20.
45. Klaus G. G. B. Immune complexes and the problem of immunological memory // *Ann. Immunol. (Paris)*—1982.—133C, N 2.—P. 221—217.
46. Klaus G. G. B., Humphrey J. H. The generation of memory cells // *Immunology.*—1977.—33, N 1.—P. 31—40.
47. Koch G., Osmond D. G., Julius M. H., Benner R. The mechanism of thymus — dependent antibody formation in the bone marrow // *J. Immunol.*—1981.—126, N 4.—P. 1447—1451.
48. Kodo H., Gale R. P., Saxon A. Antibody synthesis by bone marrow cells in vitro following primary and booster tetanus toxoid immunization in humans // *J. Clin. Invest.*—1984.—73, N 5.—P. 1377—1384.
49. Kruffy R. H., Ponzio N. M., Schrater A. F., Thorbecke G. J. Migratory pattern of B lymphocytes // *Cell. Immunol.*—1977.—30, N 2.—P. 282—299.
50. Kuhara T., Haugton G., Corley R. B. Antigen-nonspecific T-cell-derived factors in B cells activation: differences in the requirements for interleukin 2 in responses of unprimed and primed B cells // *Eur. J. Immunol.*—1985.—15, N 8.—P. 787—793.
51. Lawrence E. J., Arnaud-Battandier F., Grayson J. et al. Ontogeny of humoral immune function in normal chickens // *Clin. and Exp. Immunol.*—1981.—43, N 3.—P. 450—457.
52. Lindsten T., Yaffe L. Z., Thompson C. B. et al. The role of complement receptor positive and negative B cells in the primary and secondary immune response to thymus independent type 2 and thymus dependent antigens // *J. Immunol.*—1985.—134, N 5.—P. 2853—2859.
53. Lum L. G. The kinetics of human immune reconstitution after bone marrow transplantation // *Blood.*—1987.—69, N 2.—P. 369—380.
54. Maeda K., Hyun B. H., Rebuck J. W. Lymphoid follicle in the bone marrow aspirates // *Amer. J. Clin. Pathol.*—1977.—67, N 1.—P. 41—48.
55. Mason D. W., Gowans J. L. Subpopulations of B. lymphocytes and carriage of immunological memory // *Ann. Immunol. (Paris)*—1976.—127C, N 5.—657—666.
56. Mellbye O. J. Antibody-producing cells in bone marrow and other lymphoid tissue during the primary immune response in mice // *Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol.*—1971.—40, N 2.—P. 248—255.
57. Miller H. C., Cudkowicz G. Antigen-specific cells in mouse bone marrow // *J. Exp. Med.*—1970.—132, N 6.—P. 1122—1137.
58. Muirhead D. Y., Cudkowicz G. Subpopulations of splenic T. cells regulating an anti-hapten antibody response // *J. Immunol.*—1978.—121, N 1.—P. 130—137.
59. Myers C. D., Sanders V. M., Vitetta E. S. Isolation of antigen-binding virgin and memory B. cells // *Immunol. Meth.*—1986.—92, N 1.—P. 45—57.
60. Nakashima I., Kato N. Further studies on amplification of cell-associated immunological memory by secondary antigenic stimulus // *Microbiol. and Immunol.*—1978.—22, N 6.—P. 349—356.
61. Phipps R. P., Mandel T. E., Schnitzlein C. T., Tew J. G. Anamnestic responses induced by antigen persisting on follicular dendritic cells from cyclophosphamide — treated mice // *Immunology.*—1984.—51, N 387.—P. 387—397.
62. Pierce N. F. Induction of optimal mucosal antibody responses // *Infec. and Immun.*—1984.—43, N 1.—341—346.
63. Ponzio N. M., Baine Y., Thorbecke G. J. Localization of functional memory B cells at functional sites of antigen localization and its relationship to local aspects of immunological memory // *Phylogeny of Immunological Memory.*—Amsterdam etc., 1980.—P. 291—307.
64. Radoux D., Kinet-Denoël C., Heinen E. et al. Retention of immune complexes by Fc receptors on mouse follicular dendritic cells // *Scand. J. Immunol.*—1985.—21, N 4.—P. 345—353.
65. Richter M., Berry M., Barron P. Cells involved in the immune response // *Clin. Immunol. and Immunopathol.*—1986.—38, N 1.—P. 101—110.

66. Rouse R. V., Ledbetter J. A., Weissman I. L. Mouse Lymph node germinal centers contain a selected subset of T cells — the helper phenotype // *J. Immunol.* — 1982. — 128, N 5. — P. 2243—2246.
67. Sanders V. M., Uhr J. W., Vitetta E. S. Antigen-specific memory and virgin B cells differ in their requirements for conjugation to T cells // *Cell. Immunol.* — 1987. — 104, N 2. — P. 419—425.
68. Shiobara S., Lum L. G., Witherspoon R. P., Storb R. Antigen-specific antibody responses of lymphocytes to tetanus toxoid after human marrow transplantation // *Transplantation.* — 1986. — 41, N 5. — P. 587—592.
69. Strober S. Maturation of B lymphocytes in rats // *J. Immunol.* — 1976. — 117, N 4. — P. 1288—1294.
70. Strober S. Maturation of B lymphocytes: changes in cell surface markers // *Progress in Immunology.* — Sydney, 1977. — P. 183—194.
71. Szakal A. K., Gieringer R. L., Kosco M. H., Tew J. C. Isolated follicular dendritic cells: cytochemical antigen localization // *J. Immunol.* — 1985. — 134, N 3. — P. 1349—1359.
72. Tew J. G., Mandel T. E., Phpps R. P., Szakal A. K. Tissue localization and retention of antigen in relation to the immune response // *Amer. J. Anat.* — 1984. — 170, N 3. — P. 407—420.
73. Thorbecke G. J., Lerman S. P. Germinal centers and their role in the immune responses // *Reticuloendothel. Syst. Health and Disease.* — New York, London, 1976. — P. 83—100.
74. Tittle T. V., Rittenberg M. B. IgG B memory cell subpopulations: differences in susceptibility to stimulation by TI-1 and TI-2 antigens // *J. Immunol.* — 1980. — 124, N 1. — P. 202—206.
75. Yejenof E., Sanders V. M., Snow E. C. et al. Preparation and analysis of antigen-specific memory B cells // *Ibid.* — 1985. — 135, № 6. — P. 3777—3784.
76. Zan-Bar I., Strober S., Vitetta E. S. The relationship between surface immunoglobulin isotype and immune function of murine B-lymphocytes // *J. Exp. Med.* — 1977. — 145, N 5. — P. 1188—1205.

Ин-т биохимии им. А. В. Палладина
АН УССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 11.06.89

УДК 616.44+591.147.1

Б. В. Алешин

Физиологические основы зубной трансформации щитовидной железы и патогенез эутиреоидного зоба

Хотя эутиреоидный зоб, а точнее эутиреоидная гиперплазия тиреоидной паренхимы (или эндемическая зобная болезнь), известен со времен античной медицины, в клинической практике бытует наименование «простой зоб», поскольку эта тиреопатия протекает при сохранении эутиреоидного или даже гипотиреоидного состояния организма. В действительности же патогенез эндемической зобной болезни гораздо более сложен и установлен менее чем, например, патогенез тиреотоксикоза (болезни Грейвса — Базеда).

Так как основным специфическим активатором щитовидной железы считается аденогипофизарный тиреотропный гормон, гипофизэктомия или отделение гипофиза от гипоталамуса должны были бы иметь следствием ослабление продукции йодированных тиреоидных гормонов и атрофию тиреоидной паренхимы. Но *in vitro*, следовательно, в отсутствие тиреотропина, эксплантированные фрагменты тиреоидной паренхимы продолжают пролиферировать, размножаясь митозами и образуя в культурах эпителиальные монослои. Однако в условиях целостного организма (*in situ*) реакция щитовидной железы на гипофизэктомию ограничивается ослаблением поглощения йода и уменьшением биосинтеза йодированных тиреоидных гормонов. Если же гипофизэктомию сочетать, например, с аппликацией серебряных пластинок на поверхность коры полушарий, то в щитовидных железах атрофируются лишь активно функционирующие фолликулы, тогда как экстрафолликуляр-

© Б. В. АЛЕШИН, 1990.

ный эпителий (малоактивный в функциональном отношении) продолжает пролиферировать, хотя митозы в нем не обнаруживаются, а многочисленные перетяжки и перешнуровки ядер его клеток напоминают амитозы. Вот почему мнение о размножении тиреоцитов амитозами ранее было широко распространено [1, 2, 4, 14, 17].

Из приведенных данных видно, что гормонообразовательная деятельность щитовидной железы и пролиферация клеток ее паренхимы регулируются раздельно, особыми для каждого из обоих процессов факторами. В частности, главная функция щитовидной железы (биосинтез и секреция йодированных гормонов), судя по концентрации йодтиронинов в крови, основному обмену, интенсивности поглощения и органификации йода, не изменяется или даже несколько ослабляется во время усиленной пролиферации клеток тиреоидной паренхимы (об этом усилении свидетельствует заметное увеличение инкорпорации экзогенного тимидина пролифератом [21—23, 26, 27]).

Как было показано в нашем предыдущем сообщении [3], способ размножения тиреоцитов в интенсивно пролиферирующей *in vitro* тиреоидной паренхиме может быть прослежен по изменению содержания ДНК в делящихся ядрах. Полная репликация ядерной ДНК указывала бы на деление митозами, но выше уже отмечалось, что размножение тиреоцитов в пролиферирующей тиреоидной паренхиме внешне напоминает амитозы, однако, кариометрические определения демонстрировали в этих ядрах достоверную репликацию ДНК, соответствующую стадии S митотического цикла. Поэтому данную форму размножения тиреоцитов следует рассматривать как своеобразный эндомитоз [9], который мы определили как пролиферационный. Его физиологическое значение заключается, по-видимому, в том, что он обеспечивает более быстрое течение пролиферации тиреоидной паренхимы и тем самым роста эпителиального зоба.

К изложенному следует добавить возможное участие в формировании пролиферации тиреоидной паренхимы также тканевых ростовых факторов, особенно эпидермального фактора роста (ЭФР). Сперва было обнаружено, что инкорпорация экзогенного тимидина тиреоидными клетками, эксплантированными *in vitro*, значительно усиливается при добавлении ЭФР к инкубационной среде. Дальнейшие исследования позволили понять, что действия этого ростового фактора реализуются через сложную цепь взаимосвязанных генетических перестроек [19, 24, 25], в результате которых эпидермальный фактор тканевого роста приобретает способность увеличивать интенсивность пролиферации тиреоидной паренхимы. Усиление последней при эутиреоидном зобе побуждает искать средства возможного противодействия этой гиперплазии. Учитывая, что простагландины E и F могут способствовать стимулированию образования внутриклеточного цАМФ и через его посредство влиять на гормоногенез в щитовидной железе [20]. Балаболкин и соав. [8] пытались применить индометацин в качестве ингибитора простагландинов, чтобы достичь антиструмогенного эффекта у больных эутиреоидным зобом. Однако клинические результаты оказались недостаточно выраженными.

Значительно более перспективными в этом отношении являются результаты экспериментальных исследований, проводившихся в нашей лаборатории Матвеевой [6, 12]. Она констатировала, что 5- α -восстановленные производные тестостерона блокируют в щитовидной железе биосинтез белка, а потому ослабляют пролиферацию тиреоидной паренхимы и одновременно угнетают органификацию йода в щитовидной железе, т. е. дают тиреостатический эффект. Результаты этих экспериментов вполне обосновывают перспективность клинической проверки указанного производного, тем более, что, как будет показано, среди больных эндемической зобной болезнью преобладают женщины, и гиперплазия зоба у них стимулируется влияниями, исходящими от органов женской половой системы. Поэтому лечение женщин препаратами андрогенного свойства вполне оправдано.

Понимание условий гиперплазии тиреоидной паренхимы позволяет дифференцировать особенности патогенеза зобной болезни. В первую очередь следует обратить внимание на группу тиреопатий, объединяемых общим наименованием «спорадический зоб». По существу, это понятие относится не к конкретной нозологической единице, а к синдрому, проявляющемуся в разных тиреопатиях. Среди разновидностей спорадического зоба встречаются такие, в которых гиперплазия тиреоидной паренхимы сопровождается не ослаблением тиреоидной функции, а небольшим, но достоверным возрастанием функциональной активности тироцитов. Примером может служить история зобной эндемии в Крыму.

Уже в начале текущего столетия в литературе стали появляться одиночные сообщения о тиреопатии такого рода в некоторых районах Крымского полуострова [11]. Особую наглядность и массовость это заболевание приобрело после освобождения Крыма от фашистской оккупации, когда прежнее его население было перемещено в другие области, а на смену прибыли новые поселенцы из районов, вполне благополучных в отношении зобной эндемии. Несмотря на такого рода благополучие, уже через небольшое число лет после прибытия вопреки контакту с побережью моря и потреблением в пищу морских продуктов, у населения некоторых районов Крыма (особенно Бахчисарайского и Алуштинского вплоть до Судака, а также Гурзуфа) стали учащаться случаи небольшой, но вполне явственной гиперплазии тиреоидной паренхимы. При установлении причин оказалось, что концентрация йода в воде источников и в почве понижена, и это было связано с геологическими особенностями Южного Берега Крыма, наличием карстовых образований и избытков кальциевых соединений, в частности мела, в почве. По клиническому течению этой разновидности у половины больных отмечали легкий гипертиреоз и переход от эутиреоидного состояния организма к гипертиреоидному [10].

Хотя спорадический зоб не принадлежит к аутоиммунным заболеваниям, возникло предположение, что в его патогенезе, как и при тиреотоксикозе, известное значение имеет иммуноглобулин G (Ig G), рецептор которого является антигеном для ряда аутоантител, в том числе и для аутоантитела ТВ-II, избирательно стимулирующего пролиферацию тиреоидной паренхимы. Но у больных спорадическим зобом вообще не удалось обнаружить тиреостимулирующих аутоантител и антител ТВ-II в их числе, характерных для тиреотоксикоза. С одной стороны, допустимо предположить, что в усилении пролиферации тиреоидной паренхимы при спорадическом зобе проявляется эффект ЭФР. С другой стороны, уже из того, что ликвидация крымской эндемии была достигнута применением йодосодержащих препаратов, следует учитывать возможность участия в патогенезе этого заболевания некоторого усиления тиреотропной функции гипофиза, поскольку избыток йода угнетает последнюю.

В отличие от спорадического зоба эндемическая зобная болезнь (эутиреоидная или гипотиреоидная гиперплазия тиреоидной паренхимы) представляет наиболее распространенную и массовую тиреопатию. Максимальная заболеваемость ею констатируется в горных областях (преимущественно в высокогорных), но иногда она развивается и в низинных местностях. После того как в середине прошлого столетия многочисленные сопоставления локализации очагов зобной эндемии с результатами систематических планомерных почвоведческих исследований показали преобладающее распространение зобной эндемии в районах, в которых содержание йода в воде источников и в почве было понижено, значение дефицита йода в этиологии эндемической зобной болезни стало очевидным. Это совпадение объяснило, почему уже в античные времена было замечено, что местности, прилежащие к морскому побережью, свободны от зобной эндемии и почему издавна рекомендовалось применение морских водорослей и других морских продуктов (например, золы губок) для предохранения от зобной болезни. Когда же эти-

ологическое значение дефицита йода приобрело общее понимание, эта первоначально эмпирическая рекомендация превратилась в современную систему строгой и непрерывной профилактики эндемической зобной болезни йодосодержащими препаратами, например, поваренной (пищевой) йодированной солью или йодированным драже. Обязательность данной профилактики наглядно подтверждается тем, что непрерывным следствием ее прекращения оказывается рецидив зобной болезни. Вместе с тем, применение йодированных препаратов для лечения уже развившегося зоба неизменно оставались безрезультатными.

В клиническом проявлении эндемической зобной болезни также характерна связь с полом. Это демонстрируется индексом Ленца — Бауэра, который в подавляющем большинстве случаев удерживается в пределах 1 : 12 — 1 : 10, что означает значительно меньшую заболеваемость мужчин по сравнению с женщинами. Кроме того, мужчины, даже имеющие крупный зоб, сохраняют трудоспособность и жалуются лишь на косметические неудобства. У женщин же, обитающих в очаге зобной эндемии, гипотиреоз весьма отчетлив и сопровождается или запаздыванием полового созревания, или недонашиваемостью беременности, или рождением детей, у которых в разной мере (от неспособности к обучению, глухонемоты до кретинизма) недоразвиты высшие отделы центральной нервной системы, щитовидная железа, а иногда сопровождается появлением на свет детей с микседемой. Во многих случаях констатируются субклинические и явные симптомы гипотиреоза и возрастает частота аутоиммунного тиреоидита. Своевременное и систематическое применение йодной профилактики предотвращает указанные дефекты развития ребенка.

Переселение больных эндемическим зобом (эутиреоидным или гипотиреоидным) из очага зобной эндемии в местность, благополучную по содержанию йода в воде и почве, не приводит ни к прекращению, ни к ослаблению данного заболевания. Вместе с тем, сохранение эутиреоидного состояния организма или восстановление этого состояния после начального гипотиреоза демонстрирует, что у таких больных эндемической болезнью прекратилось влияние этиологической причины — дефицита йода в среде. Тем не менее, патологический процесс не останавливается, а продолжает прогрессировать, свидетельствуя о том, что хотя прекращается эффект недостаточности йода, вмешиваются некоторые дополнительные факторы или обстоятельства, способствующие закреплению и дальнейшему прогрессированию зобной болезни.

Таким фактором могла бы быть, например, стабилизация сдвигов и нарушений в метаболизме тиреоцитов (особенно в биосинтезе ими белков), которые неизбежно возникают как следствие длительной недостаточности поступлений йода в организм или ослабления утилизации этого микроэлемента. Что же касается возможного механизма стабилизации измененного метаболизма тиреоцитов, то существенное значение в этой трансформации может иметь состояние их рецепторов. Хорошо известно, что в условиях недостаточного питания циторекцепторы редуцируются и даже могут претерпевать деструкцию [15]. По-видимому, длительный дефицит йода постепенно приводит циторекцепторы тиреоцитов к деградации, и они теряют способность воспринимать йодиды. Так возникает критический (переломный) момент, означающий потерю реактивности тиреоцитов, т. е. данное состояние щитовидной железы стабилизируется. По существу, установление такой стабилизации оказывается своеобразным проявлением импринтинга [18]. Стабилизация щитовидной железы делает ее неспособной реагировать ни на воздействие избытков йода, ни на переселение больного эндемическим зобом в местность, свободную от зобной эндемии.

Вместе с тем, необходимо учитывать зависимость развития зобной болезни от пола больного, как то уже отмечалось выше. Соответствующие эксперименты подтверждают и иллюстрируют эту закономерность. Так, при интактных гонадах реакция культивированной щитовидной железы, подвергшейся парциальной резекции, протекает у подопытных самок и

самцов с одинаковой интенсивностью. Но если в гонадах вызвать воспаление (хотя бы асептическое, прошивая их стерильной ниткой), то у самцов результаты данного вмешательства ограничиваются образованием в семеннике соединительно-тканной капсулы вокруг инородного тела, а в культе щитовидной железы сколько-нибудь выраженной реакции не проявляется. У самок наступают глубокая перестройка паренхимы яичника с массовой атрофией фолликулов (как примордиальных, так и растущих вплоть до Граафовых пузырьков) и сильная гиперплазия интерстициальной ткани, почему продукция овариальных гормонов прекращается. В культе же щитовидной железы у самок констатируются крупные фолликулы, заполненные густым гомогенным коллоидом, а тиреоциты, выстилающие эти фолликулы, уплощаются, что указывает на значительное ослабление функциональной активности щитовидной железы. В то же время возрастает интенсивность пролиферации экстрафолликулярной тиреоидной паренхимы, вновь демонстрируя раздельную регуляцию процессов гормонообразования и пролиферации в ней, напоминая в этом отношении особенности зобной трансформации [5, 13].

Реактивность щитовидной железы в еще большей мере должна зависеть в женском организме от влияний, исходящих от матки, которая претерпевает глубокие изменения в ходе менструального цикла, а особенно во время беременности и родов. В экспериментах на животных механическое раздражение матки введением в ее полость парафина вызывает поток афферентных сигналов от эндометрия, что проявляется в ослаблении функциональной активности щитовидной железы. Во время же беременности сильно изменяется реакция щитовидной железы на воздействие 6-метилтиоурацилом. По мере приближения к сроку родов щитовидная железа перестает реагировать на указанный тиреостатик, и эффект последнего возвращается лишь после родов. Зато у развивающихся плодов тиоурацил, проникающий через плаценту, ускоряет дифференцировку зачатка щитовидной железы, который не только увеличивается в размере, но и начинает типически реагировать на этот тиреостатик. Наоборот, гистерэктомию ослабляет тиреотропную функцию гипофиза, следствием чего оказывается гипофункция щитовидной железы. Механическое же раздражение эндометрия, равно как и беременность, усиливает гиперплазию тиреоидной паренхимы и отягощает зобную трансформацию щитовидной железы у женщин, проживающих в очагах зобной эндемии [7, 16].

B. V. Aleshin

PHYSIOLOGICAL BASES OF THYROID STRUMOUS TRANSFORMATION AND EUTHYROID GOITER PATHOGENESIS

Endemic goiter disease develops as a result of iodine insufficiency in the environment, that induces advancing reproduction of thyrocytes realized by endomitosis. Eventually goiter-transformed gland ceases responding to the lack of iodine in the environment, that is due to the destruction of thyrocyte thioreceptors. It should be taken into account that goiter disease depends upon the female sexual hormones.

Institute of Endocrinology and Chemistry of Hormones,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kharkov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аleshин Б. В. Зобная болезнь и тиротоксикоз. — Киев: Здоров'я, 1965. — 59 с.
2. Аleshин Б. В. Источники и регуляция роста щитовидной железы // Арх. анатомии, гистологии, эмбриологии. — 1973. — 65, № 10. — С. 5—18.
3. Аleshин Б. В., Бриндак О. И., Мамина В. В., Кривобок Ю. В. Особенности размножения тироцитов в пролиферирующем тиреоидном эпителии // Пробл. эндокринологии. — 1983. — 34, № 4. — С. 60—64.
4. Аleshин Б. В., Губский В. И. Гипоталамус и щитовидная железа. — М.: Медицина, 1983. — 184 с.

5. Алешин Б. В., Лисогор О. П., Мирошниченко Е. В. Влияние воспаления гонад на реактивность щитовидной железы к тиреотропному гормону // Пробл. эндокринологии.— 1970.— 16, № 4.— С. 80—88.
6. Алешин Б. В., Натаров В. В., Матвеева С. Л. Влияние мужского полового гормона и его 5 α -восстановленных метаболитов на функциональное состояние щитовидной железы in vivo и in vitro // Там же.— 1983.— 29, № 1.— С. 54—59.
7. Алешин Б. В., Цариковская Н. Г. Влияние половых гормонов на состояние щитовидной железы и обмен тиреоидных гормонов // Усп. совр. биологии.— 1965.— 59, № 2.— С. 284—300.
8. Балаболкин М. И., Недосугова Л. В., Мартумян А. М. и др. Применение индометацина в лечении эутиреоидного зоба // Пробл. эндокринологии.— 1988.— 34, № 6.— С. 42—45.
9. Бродский В. Я., Урываева И. В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка.— М.: Наука, 1981.— 259 с.
10. Колесникова Р. Г. Материалы к изучению эндемической зобной болезни в Крымской области: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Симферополь, 1974.— 17 с.
11. Лежнев Н. Ф. Зоб в России: Дис. д-ра мед. наук.— М., 1904.— 257 с.
12. Матвеева С. Л. Влияние тестостерона и его 5 α -восстановленных метаболитов на функциональное состояние щитовидной железы и синтез белка // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1982.— 94, № 7.— С. 91—93.
13. Мирошниченко Е. В. Влияние интероцептивных сигналов с яичников на рост щитовидной железы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Харьков, 1970.— 16 с.
14. Романов Ю. А. Закономерности клеточного деления в фолликулярном и интерфолликулярном эпителии щитовидной железы и их значение в процессах роста и физиологической регенерации органа: Автореф. дис. канд. биол. наук.— М., 1962.— 20 с.
15. Чаба Д. Филогенез и онтогенез рецепторов // Пробл. эндокринологии.— 1986.— 32, № 2.— С. 86—90.
16. Цариковская Н. Г. Значение матки в патогенезе заболеваний щитовидной железы: Автореф. дис. д-ра мед. наук.— Харьков, 1967.— 30 с.
17. Шлыков И. П. Влияние тиреостимулирующего гормона на регенерацию щитовидной железы у гипопизэктомированных крыс // Арх. патологии.— 1969.— 31, № 5.— С. 38—43.
18. Csaba G. Phylogeny and ontogeny of hormone receptors: the selection theory of receptor oformation and hormonal imprinting // Biol. Res. (Cambrige).— 1980.— 55.— P. 47—63.
19. Heldin N. E., Westermarck B. Epidermal growth factor, but no thyrotropin, stimulates the expressor of C-fos and C-mys messenger ribonucleic acid in porcine thyroid follicle cells on primary culture // Endocrinology.— 1988.— 122.— P. 1042—1046.
20. Sato S., Szabo M., Kowalski K., Burke G. Role of prostaglandins in thyrotropin action thyroid // Ibid.— 1978.— 90.— P. 343—356.
21. Stringer B. M. J., Wynford-Thomas D., Harash H. K., Williams E. D. Reparative growth in the rat thyroid // Cell and Tissue Kinet.— 1983.— 16.— P. 571—578.
22. Valente W. A., Vitti P., Kohn L. D. et. al. The relationship of growth and adenilate cyclic activity in cultured thyroid cells: separate bioeffects of thyrotropin // Endocrinology.— 1983.— 112.— P. 71—79.
23. Wadeleux P. A., Etienne-Decerf Jc., Winand Kohn L. D. Effect of thyrotropin on iodine metabolism of dog thyroid cells in tissue culture // Ibid.— 1978.— 102.— P. 889—902.
24. Westermarck B., Karlsson F. A., Walinder O. Thyrotropin is not of growth factor for thyroid cells in culture // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1979.— 76.— P. 2123.
25. Westermarck K., Karlsson F. A., Westermarck B. Epidermal growth factor modulates thyroid growth and function in culture // Endocrinology.— 1983.— 112.— P. 1680—1686.
26. Wynford-Thomas D., Stringer B. M. Jc., Williams E. D. Dissociation of growth and function in the rat thyroid during prolonged goitrogen administration // Acta. endocrinol. (Kbh).— 1982.— 101.— P. 210—218.
27. Wynford-Thomas D., Stringer B. M. Jc., Williams E. D. Desentization of rat thyroid in the growth—stimulation action of TSH during prolonged goitrogen administration—persistence of refractoriness folowing withdrawal of stimulation // Ibid.— P. 562—568.

Харьков. науч.-исслед. ин-т эндокринологии
и химии гормонов М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 27.02.89

CONTENTS

Articles

ORLOVA Ts. R., YAKUSHKIN V. V., ELIZAROVA E. P. Taurine Content in the Blood and Myocardium of Rabbits with Experimental Heart Failure	3
POPOVICH M. I., KOBETS V. A., KAPELKO V. I. The Noradrenaline-Induced Heart Failure and Cardioprotection by Taurine	8
KHROMOV A. S., SAGACH V. F., DMITRIEVA A. V., DOLOMAN L. B. Some Mechanisms of Circulation Failure at Septic Shock	13
GARKAVENKO V. V., LIMANSKAYA L. I., KAPUSTINA M. T., KALMUTSKY A. B. Changes in Late Components of Human Somatosensory Evoked Potentials to Paired Stimulation	18
GARKAVENKO V. V., LIMANSKAYA L. I., VASILIEVA R. A., VASHCHENKO E. A. The Influence of Stimulus Intensity on the Variability and Interaction of Some Late Components of the Human Somatosensory Evoked Potentials	23
GLUKHOV V. P. The Role of the Posterior Hypothalamic Adrenergic Structures in Regulation of the Blood Coagulative System Functions	27
KOZLOVSKY V. L., PRAKHIE I. B. Convulsiogenic Action of Quinolinic Acid on the Brain Structures	31
MOVCHAN E. V. Effect of Destruction of the Auditory Cerebral Centres on Echo-Ranging Detection of Obstacles by Bats <i>Phinolophus ferrum-equinum</i> (Greater Horseshoe Bat)	36
ASHIRMETOV A. Kh., KRAKOVSKY M. E. Significance of the Parasympathetic Nervous System for Regulation of the Microsomal Monooxygenase Activity in the Rat Liver	43
MASYUK A. I., DOLGOVA E. N. A Possible Mechanism of the Liver Bile Secretion Function Regulation by Hydrocortisone	46
PARANICH A. V., CHAIKINA L. A. Influence of Alimentary Factors on the Formation of Primary and Final Products of Lipid Peroxidation	51
MISHCHENKO V. P., KAIIDASHEV I. P., KATRUSHEV A. V., SILENKO Yu. I., TSEBRZHINSKY O. I. Influence of Neutrophil Leucocytes on Condition of Lipid Peroxidation in Erythrocytes and Its Physiological Aspects	55
BABENKO N. A., BASANETS L. M., EZHOVA O. A. Age Peculiarities of Changes in Lung Heart and Brain Lipids of Albino Rats under the Effect of Dietary Factors	59
IVANOVA L. A., KARTASHEV A. G. Dynamics of Spermatogenesis in White Mice of Different Age Groups	63
BOZHKO G. Kh., CHURSINA V. S., VOLOSHIN P. V., KULABUKHOV V. M. The Influence of Ethanol on Synthesis of Proteins in Tissues of Different Organs of Guinea Pigs	70
OVSIIENKO V. V., NIKOLSKY I. S. Dissociation of the Mastolymphocyte Rosettes	75
PAVLOVICH S. I., ALEKSEEVA I. N. Changes in the Histostructure and Functional Activity of the Immunocompetent Organs Under Conditions of Damaged Portal Blood Supply of the Liver	79
PARAMONOVA G. I. Effect of Liver Denervation on the System of Microsomal Oxidation in Adult and Old Rats	84
TYUKHTIN G. M. Age Peculiarities of Insulin Effect on the Membrane Potential of Cells of Adrenocortical Zona Fasciculata	90

Brief Notes

BRYUKHIN G. V., MIKHAILOVA G. I. Intensity of the Reaction of Delayed-Type Hypersensitivity in Progeny of Rat Females with Chronic Liver Injury	94
BRYUKHIN G. V., GRACHEV A. Yu. Phagocytic Activity of the Peripheral Blood Monocytes and Peritoneal Macrophages in the Offspring of the Animals with Experimental Chronic Liver Affection	97
KRIMKEVICH E. I. Kallikrein-Kinin System of Renal Allograft	100

Procedures

DOLOMAN L. B., KHROMOV A. S. Determination of Renal Blood Flow by the Tetrapolar Rheoplethysmography Method	105
---	-----

Surveys

LYASHCHENKO K. P. Morphofunctional Relations in the Immunological Memory Formation	107
ALESHIN B. V. Physiological Bases of Thyroid Strumous Transformation and Euthyroid Goiter Pathogenesis	115

Рефераты

УДК 547.436:612.128+616.12—007.2

Содержание таурина в крови и миокарде кроликов с экспериментальной сердечной недостаточностью / Орлова Ц. Р., Якушкин В. В., Елизарова Е. П. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 4.— С.

В результате операции повреждения аортального клапана сердца у кроликов масса сердца через 2—3 мес возрастала в 1,7 раза, содержание таурина в ткани левого желудочка увеличилось в 2,8 раза, в правом — в 1,9 раза. Концентрация таурина в крови начинала возрастать через 5—10 сут после операции, через 20—30 сут достигала максимального значения, составляющего около 150 % исходного и через 2—3 мес снижалась к исходному. Животные, у которых накопление таурина в сердце было замедленным, погибли в течение двух месяцев от недостаточности кровообращения. Результаты обсуждаются на основе представлений о защитной роли таурина для миокарда в условиях сердечной недостаточности. Ил. 1. Табл. 3. Библиогр. 11.

УДК 547.436:612.128+616.12—007.2

Поражение сердца, вызываемое норадреналином, и защитный эффект таурина / Попович М. И., Кобец В. А., Капелько В. И. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 8—12.

Длительное введение крысам субтоксических доз норадреналина (НА) вызывает поражение миокарда, сопровождающееся снижением насосной функции, сократительной способности при выраженном увеличении диастолического давления и диастолической упругости левого желудочка. Энергообеспечение миокарда резко уменьшено. Введение таурина и НА достоверно улучшает работу изолированного сердца и энергетический метаболизм, что позволяет предположить защитное действие таурина при различных патологических состояниях, сочетающихся с гиперактивностью симпатической системы. Ил. 1. Табл. 2. Библиогр. 18.

УДК 616.94—085

Некоторые механизмы недостаточности кровообращения при септическом шоке / Хромов А. С., Сагач В. Ф., Дмитриева А. В., Долман Л. Б. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 13—17.

Основные параметры гемодинамики и сократительной активности миокарда, транскапиллярного обмена жидкости и белков определяли у интактных наркотизированных собак и у собак с очагом гнойной инфекции во время развития септического шока. Кроме того, у этих же животных определяли напряжение газов крови, ее pH, токсичность плазмы крови и лимфы. Показано, что в динамике декомпенсированных расстройств кровообращения при генерализации гнойного процесса начальными являются нарушения системы микроциркуляции, способствующие развитию гипоксии тканей и синдрома эндогенной интоксикации. Ил. 3. Табл. 1. Библиогр. 14.

УДК 612.014.421.7:612.014.423:616.884

Изменения поздних компонентов соматосенсорных вызванных потенциалов у человека при парной стимуляции / Гаркавенко В. В., Лиманская Л. И., Капустина М. Т., Кальмуцкий А. Б. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 18—22.

Исследованы вызванные потенциалы (ВП) человека в области вертекса на парные соматосенсорные стимулы, вызывающие болевые ощущения. Показано уменьшение амплитуды компонентов N 150 и P 250 в ответе на второй стимул, следующий через 600—1000 мс после первого. Уменьшение амплитуды обычно было более значительным для компонента N 150. Результаты селективного усреднения показывают, что между изменениями амплитуды идентичных компонентов в ответах на первый и второй стимулы при неизменной силе раздражения нет достаточно выраженной отрицательной зависимости и нередко наблюдается положительная. Это, вероятно, отражает отсутствие прямой связи между выраженностью следовых изменений тормозного характера в генераторах исследуемых компонентов ВП и мерой их предшествующей активации, а также динамику периодов «спонтанного» повышения и снижения активности генераторов при постоянной силе стимуляции. Ил. 2. Библиогр. 13.

УДК 612.014.421.7:612.014.423:616.884

Влияние интенсивности стимуляции на варибельность и взаимосвязь некоторых поздних компонентов соматосенсорного вызванного потенциала у человека / Гаркавенко В. В., Лиманская Л. И., Васильева Р. А., Ващенко Е. А. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 23—24.

Исследованы вызванные потенциалы в области вертекса на соматосенсорные стимулы различной (неболевого и болевой) интенсивности у человека. Показано, что при увеличении интенсивности раздражения происходит уменьшение значений показателей варибельности амплитуды компонентов N 150 и P 250, а также связи между «спонтанными» изменениями амплитуды этих компонентов у одного и того же испытуемого. Высказано предположение о снижении вклада общего механизма генеза для компонентов N 150 и P 250 и повышении роли автономных генераторов этих компонентов при усилении стимуляции. Ил. 2. Табл. 1. Библиогр. 9.

УДК 612.181.6:611.114.1:612.115

Роль адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса в регуляции функций системы свертывания крови / Глухов В. П. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 27—31.

В условиях хронического эксперимента производили собственно раздражение α -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса и раздражение на фоне выключенных β -адренореактивных структур. Результаты опытов показали, что укорочение I и II фаз свертывания крови происходило более выражено на фоне выключенных β -адренореактивных структур. При этом III фаза свертывания крови изменялась меньше, чем при раздражении этих структур раствором норадреналина. Раздражение β -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса вначале вызывало незначительные изменения I и II фаз свертывания крови и резко укорачивало к концу опыта. Гипокоагуляционный эффект усиливался к концу опыта во время III фазы. При выключении α -адренореактивных структур с последующим раздражением β - I и II фазы свертывания крови изменялись менее выражено, чем при введении раствора изопреналина, III фаза свертывания крови отражала гипокоагуляцию и была наиболее выражена через 30 мин. Полученные результаты отражают участие α - и β -адренореактивных структур заднего отдела гипоталамуса в регуляции функций системы свертывания крови. Ил. 1. Библиогр. 16.

УДК 616.8—009.24—02:02:615:547.831—092.9—07:616.831—073.97

Конвульсионное действие хинолиновой кислоты на мозговые структуры / Козловский В. Л., Прахье И. В. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 31—36.

Крысам, у которых электролитически разрушали стриатум, гиппокамп (дорзальная его часть) и миндалевидный комплекс, вводили в боковой желудочек мозга 30 мкг хинолиновой кислоты и регистрировали динамику судорожной реакции. Обнаружено, что разрушение стриатума препятствует развитию судорог, но не влияет на число судорожных припадков, разрушение гиппокампа увеличивает число судорожных припадков, а разрушение миндалевидного комплекса не влияет на развитие судорог. Обнаружено, что первые корреляты судорог появляются на ЭЭГ при регистрации сигналов от стриатума, затем — от гиппокампа и коры мозга. Сделан вывод о триггерной роли стриатума в развитии хинолиновых судорог у крыс. Ил. 2. Табл. 1. Библиогр. 12.

УДК 591.185.0:599.423

Влияние разрушения слуховых центров мозга на дальность эхолокационного обнаружения целей летучими мышами вида *Rhinolophus ferrugineus* (большой подковонос) / Мовчан Е. В. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 36—43.

В поведенческой методике изучено влияние выключения слуховой области коры, внутренних коленчатых тел и заднего двуххолмия на дальность эхолокационного обнаружения неподвижной проволоочной преграды летучими мышами. Показано, что разрушение слуховой области коры приводит к необратимому уменьшению (до 74,6% контрольных значений) предельной дальности обнаружения преграды животными. Обширные разрушения внутренних коленчатых тел вызывают уменьшение предельной дальности обнаружения лишь в первые послеоперационные сутки. В случае удаления заднего двуххолмия предельная дальность обнаружения необратимо уменьшается до значений, составляющих 38,5% контрольных. Обосновывается положение о том, что полученные эффекты являются следствием ухудшения чувствительности слуховой системы у летучих мышей. Ил. 2. Библиогр. 13.

УДК 616.36:612.89:577.158—092.4

Значение парасимпатического отдела нервной системы для регуляции активности микросомальной монооксигеназы в печени крыс / Аширметов А.Х., Краковский М. Э. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 43—46.

В экспериментах на крысах-самцах линии Вистар исследовали содержание цитохромов P_{450} и b_5 , активность амидопириндеметилазы, анилингидроксилазы, паранитрофенолгидроксилазы и НАДФ•Н-цитохром-с-редуктазы через 7 сут после денервации печени или введения фармакологических препаратов. Установлено, что поддиафрагмальная ваготомия или введение атропина приводит к снижению содержания цитохрома P_{450} и активности анилингидроксилазы. Стимуляция вегетативной нервной системы прозергином или ацетилхолином, напротив, повышает активность изучаемых ферментов. Предполагают наличие нервного контроля над процессами микросомального окисления. Табл. 1. Библиогр. 12.

УДК 612.35+577.175.53

Возможный механизм регуляции желчеотделительной функции печени гидрокортизоном / Масюк А. И., Долгова Е. Н. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 46—51.

Изучено влияние гидрокортизона на желчеотделительную функцию печени крыс в норме и при нарушении механизмов гормональной индукции специфическими ингибиторами синтеза белка актиномицином Д, циклогексимидом и пурамицином. Показано, что характер изменений скорости желчетока, наблюдаемых в ответ на действие гидрокортизона, зависит от интенсивности транскрипции и трансляции в клетках печени. Обсуждается роль механизмов гормональной индукции генетически детерминированного биосинтеза белка в регуляции желчеотделительной функции печени. Ил. 1. Табл. 3. Библиогр. 18.

УДК 577.161.2

Влияние алиментарных факторов на образование первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов / Паранич А. В., Чайкина Л. А. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 51—55.

В экспериментах на самцах крыс линии Вистар 3-месячного возраста исследовали содержание в плазме крови, печени и мозгу диевых конъюгатов, флюоресцирующих липопигментов и витамина Е. Скармливание крысам различных диет: рыбной и рыбной с добавлением витамина Е позволило выявить существенные особенности эффективности модуляции перекисного окисления липидов в различных тканях. В мозгу его роль как антиокислителя более выражена, но динамическое равновесие между субстратами окисления и уровнем антиокислителей после алиментарного дефицита витамина Е восстанавливается медленнее, чем в печени и плазме крови. Образующиеся же в тканях молодых половозрелых крыс флюоресцирующие липопигменты ведут себя как обычные метаболиты, а не накапливаются в форме конечных инертных продуктов. Ил. 1. Библиогр. 22.

УДК 612.11+612.014

Влияние нейтрофильных лейкоцитов на состояние липидной пероксидации в эритроцитах и его физиологическое значение / Мищенко В. П., Кайдашев И. П., Катрушов А. В., Силенко Ю. И., Цебринский О. И. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 55—59.

В работе приведены теоретические обоснования существования в организме физиологического процесса взаимодействия нейтрофильного гранулоцита и эритроцита, лежащего в основе повреждения стареющего эритроцита, и гипотетических путей его регуляции. Указывается на существование в физиологических условиях корреляции фагоцитарной активности, способности восстанавливать НСТ нейтрофилами и усиления липидной пероксидации в эритроците, спонтанного гемолиза. При стимуляции нейтрофилов донорской крови продигозаном и спленэктомии у крыс наблюдалась аналогичная корреляция. Делается вывод о перекисном механизме взаимодействия: нейтрофил — эритроцит. Возможно, этот процесс происходит и в физиологических условиях, а при удалении селезенки становится более выраженным. Ил. 1. Табл. 3. Библиогр. 18.

УДК 591.1.15:577.612.39:612.6

Возрастные особенности изменения липидов легких, сердца и мозга белых крыс под влиянием диетических факторов / Бабенко Н. А., Басанец Л. М., Ежова О. А. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 59—63.

Изучали влияние длительного применения периодического калорийно недостаточного питания на липидный обмен. Выявлена возрастная специфичность действия диеты на количество фосфолипидов, холестерина, его эфиров, жирных кислот и триацилглицеринов в тканях изученных органов. У старых подопытных животных по сравнению со старыми контрольными крысами состав липидов тканей приближается к таковому молодых животных. Табл. 1. Библиогр. 9.

УДК 612.661;612.616.(591.147.8+591.463.12)519.24

Динамика сперматогенеза у белых мышей различных возрастных групп / Иванова Л. А., Карташев А. Г. // Физиол. журнал.— 1990.— 36, № 6.— С. 63—70.

Изучали комплекс гистоморфологических показателей половых желез беспородных белых мышей самцов в постнатальный период их развития (с 2-х по 455-е сутки абсолютного возраста). В результате установлено наличие четырех переходных этапов, связанных с ростом семенных канальцев (6—15-е сутки), активацией эндокринного аппарата семенников и появлением высокодифференцированных элементов сперматогенного эпителия (25—30-е сутки). Третий этап (175-е сутки) соответствует угасанию эндокринной функции семенников, что предшествует общему угнетению сперматогенеза (четвертый переходный этап—335—455-е сутки). Показано, что изменениям в герменативном эпителии предшествуют сдвиги активности эндокринной системы. Ил. 2. Табл. 1. Библиогр. 16.

УДК 612.015.348:547.262

Влияние этанола на синтез белков в тканях различных органов морских свинок / Божко Г. Х., Чурсина В. С., Волошин П. В., Кулабухов В. М. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 70—75.

Исследовали действие длительного (в течение 3 мес) введения этанола на состав и синтез электрофоретических фракций растворимых белков тканей печени, мозга, сердца, почек и надпочечников морских свинок. Результаты дают основание полагать, что количественное перераспределение исследуемых фракций под влиянием этанола обусловлено их агрегацией. В большинстве тканей наблюдалось уменьшение удельной радиоактивности общих белков и пяти из 8-9 регистрируемых электрофоретических фракций. Лишь одна из фракций в мозгу и сердце характеризовалась увеличением интенсивности синтеза белков. На основании собственных результатов и данных литературы можно заключить, что при анализе патогенеза хронической интоксикации этанолом и алкоголизма необходимо учитывать количественное перераспределение растворимых белков и угнетение их синтеза в различных тканях. Ил. 1. Табл. 1. Библиогр. 16.

УДК 612.112.93:612.112.94:616—006—092.4/9

Диссоциация мастолимфоцитарных розеток / Овсиенко В. В., Никольский И. С. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 75—79.

Изучено влияние инкубации мастолимфоцитарных розеток (МЛР) и Е-розеток при 4 и 37 °С в среде 199. Установлено, что инкубация при 37 °С приводит, в отличие от Е-розеток, к необратимой диссоциации значительной части МЛР. Потеря способности к образованию розеток обусловлена утратой соответствующих комплементарных структур главным образом тучными клетками. Получены результаты, позволяющие предполагать участие в процессе диссоциации явлений шеддинга и экпинга, индуцируемых контактным взаимодействием мастоцитов и лимфоцитов. Табл. 3. Библиогр. 9.

УДК 612.017+611.018.+612.1+612.3

Изменение гистоструктуры и функциональной активности иммунокомпетентных органов в условиях нарушенного воротного кровоснабжения печени / Павлович С. И., Алексеева И. Н. — Физиол. журн. — 1990. — 36, № 6. — С. 79—84.

У мышей линии СВА в динамике после дозированного сужения воротной вены (на 45% и 58%) проведено морфологическое исследование печени и иммунокомпетентных органов, а также изучено содержание ПСКК в костном мозгу (методом экзогенного колониеобразования) и АОК в селезенке после иммунизации эритроцитами барана. Гистоструктурные изменения в тимусе, селезенке и брыжеечных лимфоузлах зависели от морфофункциональных нарушений печени и были наиболее выраженными при большем сужении воротной вены на 16—17-е сутки после операции. Наряду с преобладанием пролиферативных процессов доля деструктивного компонента при этом была значительно больше, чем при меньшем сужении воротной вены. Характер изменений содержания ПСКК и АОК также зависит от меры повреждения печени: при менее выраженной патологии печени эти показатели повышены, при более выраженной — снижены. Ил. 2. Библиогр. 8.

УДК 612.351.110.12:612.67

Влияние денервации печени на систему микросомального окисления взрослых и старых крыс / Парамонова Г. И. // Физиол. журн. — 1990. — 36, № 6. — С. 84—89.

В опытах на взрослых и старых крысах-самцах линии Вистар показано, что хирургическая денервация печени (раздельная ваготомия и симпатотомия) приводит к изменению монооксигеназной активности, изоформного состава и индуцированного фенобарбиталом синтеза цитохрома Р-450. При старении нервный контроль над детоксикационной функцией печени ослабляется, что, возможно, является одной из причин снижения активности микросомальной системы. Ил. 1. Табл. 1. Библиогр. 17.

УДК 612.453.014.612.349.8:612.67

Возрастные особенности влияния инсулина на мембранный потенциал клеток пучковой зоны коры надпочечников / Тютин Г. М. // Физиол. журн. — 1990. — 36, № 6. — С. 90—93.

В опытах, проведенных на взрослых (6—7 мес) и старых (26—28 мес) крысах-самцах линии Вистар, определяли значение мембранного потенциала (МП) адренкортикоцитов (АКЦ) пучковой зоны коры изолированных надпочечников (ИН) и активность Na^+ , K^+ -АТФазы гомогената ИН. Не обнаружено существенных возрастных различий значений МП АКЦ пучковой зоны коры и активности Na^+ , K^+ -АТФазы гомогената ИН. Введение инсулина (*in vivo*—1,6 Ед/кг и *in vitro*—0,1 Ед/мл) вызывает гиперполяризацию плазматических мембран АКЦ, повышение активности Na^+ , K^+ -АТФазы ИН животных обеих возрастных групп. Оубанин и актиномицин Д блокируют инсулининдуцируемую гиперполяризацию АКЦ, а 2-аминопиридин не оказывает влияния на этот процесс. Влияние инсулина на МП АКЦ ИН менее выражено у старых животных, чем у взрослых. Табл. 1. Библиогр. 15.

УДК 616.36—002.2—097

Интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа у потомства самок крыс с хроническим поражением печени / Брюхин Г. В., Михайлова Г. И. // Физиол. журн. — 1990. — 36, № 4. — С. 94—97.

Изучена интенсивность реакции ГЧЗТ у потомства самок крыс с хроническим аутоиммунным процессом с преимущественным поражением печени в различные сроки раннего периода постнатального онтогенеза. Полученные результаты указывают на депрессию реакции ГЧЗТ у потомства экспериментальной группы животных и на более выраженный, чем в контроле, супрессивный эффект их иммунных спленоцитов в условиях сигенного переноса в фазу экспрессии. Табл. 2. Библиогр. 14.

УДК 616.36—002.2—008.853—08

Фагоцитарная активность моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов у потомства животных с экспериментальным хроническим поражением печени / Брюхин Г. В., Грачев А. Ю. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 97—100.

С помощью люминисцентного метода, основанного на прижизненном флюорохромировании акридиновым оранжевым, изучены поглотительная и бактерицидная функции моноцитов периферической крови и макрофагов брюшной полости у потомства экспериментальных животных с хроническим аутоиммунным поражением печени. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у данной группы животных на всех сроках раннего постнатального периода онтогенеза наблюдается угнетение поглотительной, метаболической и, особенно, периваривающей функций мононуклеаров. Ил. 1. Табл. 1. Библиогр. 10.

УДК 612.115.1:616.61—089.843

Калликреин-кининовая система почечного аллотрансплантата / Кримкевич Е. И. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 100—104.

Исследованы показатели калликреин-кининовой системы (ККС) в ткани почечного трансплантата (раздельно в кроковом и мозговом слоях) и моче крыс-реципиентов на 4-е, 8-е и 12-е сутки его функционирования до развития клинических признаков отторжения: наличие нормо- или невыраженной гиперкреатининемии, сохраненной водовыделительной функции. Обнаружена контролируемая активация кинингенерирующего звена локальной ККС (более выраженная в медулле), проявляющаяся в увеличении активности калликреина (пропорционально срокам функционирования трансплантата) и ингибиторной активности (независимо от сроков наблюдения). Отмечено возрастание кининазной активности в трансплантате, наиболее выраженное на 4-е сутки, и в мозговом слое. Выявлены снижение эстеразной активности калликреина и некоторое увеличение его протеолитической активности, значительное повышение ингибиторной емкости и увеличение кининазной активности в моче. Сдвиги в ККС в результате увеличения активности кининазы II приводят к усилению продукции ангиотензина II, тем самым ухудшая функцию трансплантата, а также способствуют локальному тромбозу сосудов, снижению перфузии и потенцированию деструкции трансплантата. Полученные результаты свидетельствуют об участии ККС в патогенезе реакции отторжения пересаженной почки как медиатора возникающих функциональных и структурных повреждений. Табл. 3. Библиогр. 17.

УДК 612.463.4

Определение почечного кровотока методом тетраполярной реоплетизмографии / Доломан Л. Б., Хромов А. С. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 105—106.

Работа посвящена изучению возможности определения абсолютных значений почечного кровотока с помощью метода тетраполярной реоплетизмографии. Для этого две пары кольцевых электродов располагали транскорпорально: в поясничной области и на передней брюшной стенке в зоне проекции соответствующей почки. Почечный кровоток рассчитывали по формуле Кубичека. Результаты выполненных исследований показали, что у здоровых людей среднее значение кровотока в правой почке составляет (564 ± 27) мл/мин, а в левой — (542 ± 26) мл/мин, что хорошо согласуется с данными литературы. Таким образом, метод тетраполярной реоплетизмографии является достаточно надежным и удобным способом количественной оценки почечного кровообращения. Ил. 2. Библиогр. 5.

УДК 612.017.1

Морфофункциональные взаимоотношения в формировании иммунологической памяти / Лященко К. П. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 6.— С. 107—115.

В обзоре обсуждаются иммуноморфологические аспекты формирования иммунологической памяти (ИП). Рассмотрены отличительные особенности В-клеток памяти и проанализированы механизмы их индукции, созревания и активации. Продемонстрирована тесная взаимосвязь локализации антигена в лимфоидных фолликулах, образования в них зародышевых центров и выработки В-клеток памяти. Показана роль различных клеток и органов иммунной системы в формировании ИП. Подчеркивается практическая важность дальнейшего изучения структурно-функциональных основ индукции и регуляции ИП. Библиогр. 76.



1р.40н.

ИНДЕКС 74523

Физиологический журнал

ТОМ 36 6 1990

НАУКОВА ДУМКА

ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1990, Т. 36, № 6, 1—128
