

12. Grinevich Ju. A., Umansky V. Yu., Kamenets L. Ya. et al. The lymphocyte activity of adenosine deaminase and enzymes of AMP metabolisms in mammary carcinogenesis: The effect of thymostimulin // *Neoplasma*.— 1984.— 31, N 1.— P. 21—29.
13. Holaday J. W. Cardiovascular consequences of endogenous opiate anagonism // *Biochem. Pharmacol.* 1983.— 32, N 4.— P. 573—585.
14. Van Gelder N. M. Glutamate dehydrogenase, glutamic aside decarboxylase and GABA — aminotransferase in mouse cortex // *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* 1974.— 53, N 8.— P. 952—959.
15. Willer J. C., Albe-Fessard D. Electrophysiological evidence for a release of endogenous opiates in stressinduced analgesia in man // *Brain Res.*— 1980.— 198, N 3.— P. 419—426.

Ин-т проблем онкологии
им. Р. Е. Кавецкого АН УССР

Материал поступил
в редакцию 23.07.89

УДК 612.112.91:612.66+612.119+612.12.128

Н. В. Лунина, Л. В. Абакумова

Возрастные особенности реакции лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов периферической крови кроликов на действие иммобилизации

Исследованиями, проведенными в нашей лаборатории, установлено, что нейтрофильный лейкоцитоз, который является одним из проявлений стресс-синдрома при действии факторов неинфекционной природы, сопровождается деградацией нейтрофильных лейкоцитов периферической крови [9—12]. Показано, что морфофункциональные изменения лизосомального аппарата не являются специфическими, а зависят от силы повреждающего агента, т. е. являются фактором неспецифической адаптации [3]. Так как формирование адаптационных механизмов происходит в онтогенезе, то цель нашего исследования — изучение возрастных особенностей реакции лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов периферической крови кроликов на действие неинфекционного стрессора (иммобилизации).

Методика

Эксперименты проведены на беспородных кроликах обоего пола двух возрастных групп: 24 животных раннего возраста (1 мес) массой 0,32—0,46 кг и 17 трехмесячных (стадия полового созревания) массой 1—2 кг. В качестве стрессора использовали иммобилизацию животных в положении на спине в течение 12 ч. Животных обследовали до опыта и ежедневно в течение 16 сут после иммобилизации. Изучали следующие показатели: в периферической крови — общее число лейкоцитов и нейтрофилов, по общепринятой методике [13]; в костном мозгу — число миелокариоцитов и парциальную гранулоцитограмму. Вычисляли абсолютное число клеток пролиферирующего и созревающего пулов гранулоцитарного ряда в единице объема костномозговой ткани [12]. В мазках крови, окрашенных по Май-Грюнвальду, подсчитывали число лизосом в нейтрофильных лейкоцитах [12]. В сыворотке крови определяли активность маркерного лизосомального фермента — кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2) — по методу Боданского [5].

Результаты обработаны методами вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Результаты, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о том, что в периферической крови одномесячных кроликов иммобилизация вызывает стойкий лейкоцитоз, развивающийся к 3-м суткам после воздействия

Таблица 1. Влияние иммобилизации на содержание лейкоцитов в 1 мм³ периферической крови и показатели гранулоцитопоза у кроликов разного возраста (M±m), тыс. клеток

Показатель	До иммобилизации	После иммобилизации								
		1-е сутки	3-е сутки	4-е сутки	6-е сутки	7-е сутки	9-е сутки	11-е сутки	13-е сутки	15-е сутки
Общее число лейкоцитов										
у 1-месячных	5±0,3	0±0,5	+2±0,8*	+2±0,7*	+2±0,3*	+3±0,8*	+8±2,0*	+3±0,5	+3±0,6*	+4±0,5*
у 3-месячных	7±0,6**	+2±0,4*,**	-1±0,5**	-1±0,5**	-1±0,5**	0±0,7**	0±0,6**	0±0,9**	+1±1,1**	+3±1,4
Число нейтрофильных лейкоцитов										
у 1-месячных	2±0,2	0±0,2	+1±0,4	0±0,3	+1±0,2*	+2±0,5*	+4±1,0*	+1±0,4*	+1±0,4*	+1±0,6*
у 3-месячных	3±0,6**	+1±0,8	-1±0,7	-1±0,6	0±0,5	-1±0,6**	0±0,7**	+1±1,7	-1±1,2	+1±1,1
Число миелокариоцитов										
у 1-месячных	63±5,2	-5±2,0	+74±16,0*	+71±6,5*	+45±7,0*	+80±23,5*	+54±6,3*	+27±7,1*	-8±8,3	+2±22,3
у 3-месячных	58±8,8	-10±2,5*	-15±3,5*	+23±7,5*,**	+14±1,3*,**	+29±3,0*	+101±6,1*,**	+19±12,7	+21±11,0	+14±8,9
Число клеток гранулоцитарного ряда:										
пролиферирующего пула										
у 1-месячных	3±0,0	+0±0,5	+1±0,6	+4±0,6*	+3±0,6*	+6±1,5	+4±0,7*	+6±1,4*	+1±1,3	-0,4±1,4
у 3-месячных	3±0,7	-1±0,4	-2±0,7**	0±0,5**	-2±0,3*	+3±0,5*,**	+3±0,3*	-1±0,6**	-2±0,6	-1±0,6
созревающего пула										
у 1-месячных	13±2,5	-0,8±0,4	+7±0,7*	+13±1,9*	+1,2±0,1*	+11±3,0*	+6±0,5*	+8±3,6	-2±0,8	-5±5,6
у 3-месячных	16±0,8	-6±1,4*	-8±1,9*,**	+2±1,2**	+3±0,6*,**	+5±1,1*	+2±0,9**	-4±2,7**	0±2,3	-1±1,1

Примечание. Здесь и в табл. 2 одной звездочкой обозначена достоверность различий между опытами и исходными значениями показателями (P<0,05), двумя — достоверность различий между значениями показателей у животных 1-й и 2-й групп.

стрессором и не исчезающий до конца обследования. На 6-е сутки в крови этих животных наблюдалось увеличение абсолютного числа нейтрофильных лейкоцитов, которое также сохранялось до последних суток исследования, достигая максимума на 7—9-е сутки.

В костном мозгу кроликов этого возраста через сутки после иммобилизации обнаруживалась тенденция к уменьшению содержания миелокариоцитов и клеток созревающего пула, что является доказательством поступления зрелых гранулоцитов в кровяное русло. На 3-и сутки после воздействия отмечалась активация миелопоэза, выражавшаяся увеличением числа клеток пролиферирующего и созревающего пулов гранулоцитарного ряда и длившаяся вплоть до 11-х суток после опыта. В дальнейшем эта реакция не носила закономерного характера.

У трехмесячных животных общее число лейкоцитов и абсолютное число нейтрофилов в единице объема периферической крови было больше, чем у кроликов раннего возраста. В отличие от одномесячных животных, у которых лейкоцитоз регистрировался на протяжении всего срока исследования, в крови трехмесячных кроликов увеличение общего числа лейкоцитов отмечено лишь через сутки после иммобилизации. Содержание же нейтрофилоцитов в периферической крови этих животных не изменялось, в то время как у одномесячных кроликов иммобилизация вызывала стойкий нейтрофильный лейкоцитоз.

Характер реакции костного мозга трехмесячных кроликов на иммобилизацию был сходен с таковым у животных раннего возраста. В отличие от одномесячных кроликов у трехмесячных уменьшение числа миелокариоцитов и клеток созревающего пула гранулоцитарного ряда длилось 3 сут. Этот процесс был более продолжительным, чем у одномесячных крольчат. На 4-е сутки в костном мозгу трехмесячных животных выявлялась активация гранулоцитопоэза, а у кроликов раннего возраста этот процесс начинался несколько раньше — на 3-и сутки после иммобилизации. Кроме того, активность пролиферации и созревания у трехмесячных животных была менее выражена, чем у одномесячных. Значения показателей костномозгового кроветворения у трехмесячных кроликов возвращались к исходным через 10 сут после воздействия стрессором.

Как видно из табл. 2, уже через сутки после иммобилизации у животных обеих возрастных групп происходила дегрануляция нейтрофилов. У кроликов старшего возраста дегрануляция заканчивалась к 15-м сут после стресса, в то время как в периферической крови одномесячных животных дегранулированные нейтрофилоциты циркулировали и в последние сутки обследования. Дегрануляция нейтрофильных лейкоцитов у трехмесячных животных была более выраженной, чем у одномесячных, что выражалось существенным снижением относительного числа нейтрофилов, содержащих нормальное число лизосом (на 5—7-е сутки), увеличением относительного числа полностью дегранулированных нейтрофилоцитов. Однако абсолютное число дегранулированных (содержащих менее 30 лизосом) нейтрофильных лейкоцитов в периферической крови не различалось у кроликов обеих возрастных групп.

При определении активности маркерного лизосомального фермента кислой фосфатазы обнаружено повышение ее в сыворотке крови животных обеих групп. Необходимо отметить, что у одномесячных кроликов повышение активности фермента наблюдалось на протяжении всего периода обследования, тогда как в сыворотке крови трехмесячных животных — лишь через 2 сут после иммобилизации, а на 12-е сутки после воздействия стрессором активность ее не отличалась от исходной. Кроме того, активность данного фермента в сыворотке крови одномесячных крольчат была выше, чем у животных старшего возраста.

Практически все кролики одномесячного возраста погибали в течение 30—45 сут после иммобилизации. Проведенное в связи с этим определение у отдельных животных общего числа лейкоцитов в позд-

Таблица 2. Влияние иммобилизации на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов и активность кислой фосфатазы в 1 мм³ крови у кроликов разного возраста ($M \pm m$)

Показатель	До иммобилизации	После иммобилизации									
		1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки	5-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	11-е сутки	13-е сутки	15-е сутки	
Относительное число нейтрофилов, %:											
содержащих более 30 лизосом											
у 1-месячных	100±0,0	-26±3,8*	-20±3,3*	-17±2,9*	-24±3,7*	-18±2,4*	-16±4,4*	-22±4,2*	-24±3,5*	-26±3,2*	
у 3-месячных	98±1,3	-24±8,1*	-32±5,3*	-21±4,7*	-41±5,9**	-35±2,5**	-28±5,1*	-18±4,1*	-18±6,2*	-11±7,2**	
содержащих от 10 до 30 лизосом											
у 1-месячных	0	+23±3,4*	+19±2,8*	+16±2,6*	+22±3,6*	+17±2,5*	+15±3,5*	+21±3,9*	+24±3,6*	+22±2,5*	
у 3-месячных	2±1,3	+17±6,3*	+28±3,7*	+18±3,8*	+28±3,1*	+29±2,2**	+25±4,4*	+16±3,3*	+15±4,2*	+10±6,7	
содержащих менее 10 лизосом											
у 1-месячных	0	+3±6,9	+1±0,5	+1±0,5	+2±0,9	+1±0,6	+1±1,4	+1±0,7	+0±0,3	+4±2,5	
у 3-месячных	0	+7±2,6*	+4±2,0*	+3±1,2*	+13±4,1**	+6±2,0**	+3±2,1	+2±1,4	+3±2,3	+1±1,0	
Абсолютное число нейтрофилов, содержащих менее 30 лизосом, тыс. клеток											
у 1-месячных	0	+0,5±0,1*	+0,5±0,1*	+0,3±0,1*	+0,4±0,1*	+0,5±0,1*	+0,7±0,2*	+0,5±0,1*	+0,5±0,1*	+0,8±0,2*	
у 3-месячных	0,1±0,1	+1±0,7	+1±0,2*	+0,5±0,1*	+0,9±0,2**	+0,6±0,1*	+1±0,3*	+0,6±0,2	+0,6±0,5	+0,1±0,1**	
Активность кислой фосфатазы, БЕ											
у 1-месячных	0	+2±0,6*	+1,8±0,2*	+3±0,2*	+3±0,9*	+3±0,8*	+2±0,3*	+1±0,4*	+2±0,2*	+2±0,3*	
у 3-месячных	0	0±0,1	+1±0,2*	+0,3±0,2**	+1,4±0,3*	+0,7±0,1**	+1±0,2**	+1±0,4*	0±0,1**	0**	

ние сроки (после 16-х суток) показало, что лейкоцитоз сохраняется у них и в этот период. Из 17 экспериментальных трехмесячных животных лишь 6 погибли в первые дни после иммобилизации.

Таким образом, возрастные особенности изменения изучаемых показателей заключались в следующем: у одномесячных кроликов в ответ на иммобилизацию был выявлен стойкий и выраженный лейкоцитоз, а начиная с 6-х суток после воздействия, и нейтрофилез, тогда как у трехмесячных животных нейтрофильный лейкоцитоз в периферической крови не выявлялся, а увеличение общего числа лейкоцитов отмечалось лишь в первые сутки после иммобилизации. Характер лейкоцитарной реакции одномесячных кроликов обусловлен продолжительной и ярко выраженной активацией гранулоцитопоэза.

В соответствии с данными литературы, стойкий лейкоцитоз после иммобилизации у одномесячных животных можно связать с более существенной, чем у животных трехмесячного возраста (половое созревание), активацией гипоталамо-адренокортикальной системы [1], которая определяет включение в адаптацию нейтрофильных лейкоцитов [6]. Что же касается отсутствия лейкоцитоза при выраженной активации гранулоцитопоэза у трехмесячных кроликов, то предположительно это явление можно объяснить агрегацией лейкоцитов. Данный процесс нельзя исключить и у одномесячных животных, так как установлено, что гиперадгезивность нейтрофилов может быть индуцирована некоторыми факторами, в частности, комплементом [4, 8], активация которого обнаружена при иммобилизации [2], лизосомальными ферментами, катионными белками, фибриногеном [14—17], концентрация которого в крови животных, подвергшихся иммобилизации, возрастает [2, 9].

Несмотря на то, что дегрануляция нейтрофильных лейкоцитов у одномесячных кроликов была менее выражена, и абсолютное число дегранулированных нейтрофилов не отличалось от такового у трехмесячных животных, активность кислой фосфатазы у кроликов раннего возраста была значительно выше. Исследованиями, проведенными в нашей лаборатории, показано, что активность маркерных лизосомальных ферментов (кислой фосфатазы, катепсина D) в значительной мере обусловлена их поступлением из лизосом именно нейтрофильных лейкоцитов периферической крови [7, 11]. На основании этого более выраженное повышение активности кислой фосфатазы у одномесячных кроликов, чем у трехмесячных, при одинаковом числе дегранулированных нейтрофилов можно предположительно связать с большей способностью к агрегации нейтрофильных лейкоцитов в этом возрасте, что не позволяет определить число их в периферической крови, но не препятствует появлению кислой фосфатазы в плазме. Однако нельзя исключить возможности при данной постановке эксперимента более выраженного поступления лизосомальных ферментов из клеток других тканей и органов. Выяснение этого вопроса будет являться целью наших дальнейших исследований.

N. V. Lunina, L. V. Abakumova

AGE PECULIARITIES OF RESPONSE OF LYSOSOME SYSTEM OF NEUTROPHILIC LEUKOCYTES IN THE RABBIT PERIPHERAL BLOOD TO ACTION OF IMMOBILISATION

It is shown that there are age differences in response of the lysosome system of neutrophilic leukocytes in peripheral blood of 1- and 3-month rabbits to 12-hour immobilisation. Differences of the leukocyte responses and the response of marrow hemopoiesis to the stress are observed as well.

Pedagogical Institute, Ministry of Higher and Secondary Special Education, Lugansk.

1. Агамирова Р. М., Рыбакова О. И., Эфендиева В. А. Возрастные особенности реакции гипоталамо-адренокортикальной и симпатoadренальной систем на физическую нагрузку // XV съезд Всесоюз. физиологич. об-ва им. И. П. Павлова (Кишинев, — 1987 г.) : Тез. науч. сообщ. — Л. : Наука, 1987. — Т. 2. — С. 551.
2. Агафонова Н. А., Лунина Н. В. Влияние α -токоферола ацетата на реакцию лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов при действии иммобилизационного стресса // Физиол. журн. — 1987. — 33, № 1. — С. 57—63.
3. Агафонова Н. А., Шинкарев С. И. Зависимость реакции лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов от интенсивности действия неинфекционных стрессоров // XII съезд Украин. физиологич. об-ва им. И. П. Павлова : Тез. докл. — Львов. — 1986. — С. 6.
4. Бережная Н. М. Нейтрофилы и иммунологический гомеостаз. — Киев : Наук. думка, 1988. — 192 с.
5. Биохимические методы исследования в клинике // Под ред. А. А. Покровского. — М. : Медицина, 1969. — 652 с.
6. Горизонтов П. Д. Закономерности неспецифической реакции кроветворных органов на действие чрезвычайных раздражителей (стрессоров) // Арх. патол. — 1973. — 35, № 8. — С. 3—11.
7. Козут Н. А. Изменения лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов в процессе адаптации организма к действию стрессоров различной интенсивности : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Киев, 1988. — 17 с.
8. Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. — Новосибирск : наука, Сиб. отд-ние, 1989. — 344 с.
9. Лунина Н. В., Агафонова Н. А. Влияние многократного стрессорного воздействия на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов // Физиол. журн. СССР. — 1986. — № 7. — С. 952—958.
10. Лунина Н. В., Козюк П. М. Влияние острой кровопотери на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов // Патол. физиол. — 1978. — № 2. — С. 76—78.
11. Лунина Н. В., Полтавский А. Ф. Изменения в системе гемостаза в условиях угнетения гранулоцитопоза при действии на организм животных пониженного барометрического давления // Физиол. журн. — 1985. — 31, № 6. — С. 712—716.
12. Скрипка Е. В. Влияние кровопотери на изменение активности лизосомальных ферментов нейтрофилов и уровень артериального давления // Там же. — 1983. — 29, № 4. — С. 439—443.
13. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования // Под ред. Е. А. Кост. — М. : Медицина, 1969. — 436 с.
14. Dykman I., Cole J., Iida K., Atkinson J. Structural heterogeneity of C3b/C4b receptor (CR1) on human peripheral blood cells // J. Exp. Med. — 1983. — 157, N 7. — P. 2160.
15. Evidence that fibrinogen and fibronectin and modulators of erythrocyte adhesion to vascular endothelium / J. Wautier, D. Pintigny, M. Wautier et al. // Lab. Clin. Med. — 1983. — 101, N 7. — P. 911—920.
16. Factors involved in cell adhesion to vascular endothelium / J. Wautier, M. Wautier, D. Pintigny et al. // Blood Cells. — 1983. — 9, N 2. — P. 221—234.
17. Possible role of fibrinogen in the aggregation of white blood cells / S. Berliner, J. Fuchs, U. Seligsohn et al. // Thromb. and Haemost. — 1987. — 58, N 2. — P. 749—752.

Луганский пед. ин-т

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

Материал поступил
в редакцию 02.08.89

УДК 612.819:612.327

С. Д. Гройсман, Б. С. Полинкевич, Н. М. Харченко, В. И. Злой

Влияние экстрагастральной ваготомии на желудочную эвакуацию и моторику тонкой кишки

Известно, что ваготомия оказывает существенное влияние на моторную и эвакуаторную функции желудка. Значительно слабее изучен вопрос о роли блуждающих нервов в регуляции моторной функции тонкой кишки, хотя считается твердо установленным, что блуждающие нервы иннервируют не только всю тонкую кишку, но и первую треть толстой кишки [3, 11]. Данные, полученные в исследованиях со стволовой перерезкой блуждающих нервов, не могут рассматриваться как

© С. Д. ГРОЙСМАН, Б. С. ПОЛИНКЕВИЧ, Н. М. ХАРЧЕНКО, В. И. ЗЛОЙ, 1991