

3. Гонгальский В.В. Электрофизиологическая оценка неврологических проявлений нарушения топографии позвоночного двигательного сегмента // Ортопедия, травматология и протезирование. — 1988. — № 11. — С. 43—46.
4. Гордон И.Б. Вертеброгенные рефлекторные синдромы грудной клетки и связанные с ними сердечно-сосудистые синдромы // Ревматология. — 1984. — № 3. — С. 55—59.
5. Динабург А.Д., Рубашева А.Е., Рабинович О.А., Гнатиук Е.П. Заболевания нервной системы при дегенеративных процессах позвоночника. — К.: «Здоров'я», 1967. — 82 с.
6. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. — К.: Вища школа, 1984. — 208 с.
7. Мульдьяров П.Я. Субмикроскопическая патоморфология ревмокардита. — М.: Медицина, 1979. — 216 с.
8. Непомнящих Л.М. Патологическая анатомия и ультраструктура сердца. — Новосибирск: Наука, 1981. — 324 с.
9. Отелин А.А. Иннервация скелета человека. — М.: Медицина, 1965. — 251 с.
10. Пауков В.С., Фролов В.А. Элементы теории патологии сердца. — Там же, 1982. — 272 с.
11. Сувак В.В. Поражение сердечно-сосудистой системы при остеохондрозе позвоночного столба: Мат-лы X итог. науч. конф. молодых ученых и специалистов Киев. мед. ин-та. — К., 1984. — С. 92—93.
12. Хехт А. Введение в экспериментальные основы современной патологии сердечной мышцы. — М.: Медицина, 1975. — 503 с.
13. А.с. 147421 СССР, МКИ 09 В 23/28. Способ моделирования остеохондроза / В.В.Гонгальский, Е.В.Тулинова. — Опубл. 23.04.98, Бюл. № 12.

Укр. мед. ун-т,
им. акад. А.А.Богомольца
М-ва здравоохранения Украины, Киев

Материал поступил
в редакцию 02.04.93

УДК 616.155.3—002:576.311.344

Н.В.Лунина, О.А.Зеленько

Морфо-функціональні зміни лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові при асептичному запаленні

зучали реакцію лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферической крові кроликів в умовах розвитку общего адаптационного синдрому в ответ на воздействие флогогенного агента. Результаты указывают на то, что реакция лизосомального аппарата нейтрофилов при воспалении носит неспецифический характер. Об этом свидетельствуют характер реакции миелоидной ткани, обеспечивающей нейтрофилез, повышение интенсивности дегрануляции, усиление адгезивных свойств нейтрофилов, повышение активности лизосомальной кислой фосфатазы. При этом вышеуказанные процессы не имеют принципиальных отличий от таковых при стресс-синдроме, развивающемся в ответ на воздействие иных стресс-факторов неинфекционной природы.

Вступ

Сел'є у своїх працях довів, що у формуванні загального адаптаційного синдрому важливу роль відіграє система крові, проявом неспецифічної реакції якої є нейтрофільний лейкоцитоз [10]. Пізнішими дослідженнями доведено також, що нейтрофілоз, який розвивається за умов стрес-синдрому, забезпечується мобілізацією кісткомозкового резерву гранулоцитів та активацією гранулоцитопоезу [3,4].

© Н.В.ЛУНИНА, О.А.ЗЕЛЕНЬКО, 1994

Дослідженнями, проведеними в нашій лабораторії, встановлено, що нейтрофільний лейкоцитоз, який розвивається у відповідь на дію ряду стрес-факторів неінфекційної природи, супроводжується реакцією лізосомального апарату нейтрофілів, яка проявляє себе у зменшенні числа лізосом у клітинах та вивільненні лізосомальних ферментів у плазмі крові. Доведено участь лізосомальних ферментів нейтрофілів у регуляції ряду функцій організму під час стресу (наприклад, регуляція систем гемостазу, кініногенезу, комплементу шляхом активації фактора Хагемана) [1—9,11]. При цьому відмічено, що морфо-функціональні зміни лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів не залежать від характеру дії, а визначаються її інтенсивністю, що дозволяє віднести реакцію лізосомального апарату нейтрофілів при дії стрес-факторів до неспецифічного компонента загального адаптаційного синдрому [1,4,7,11]. Проте викликає неоднозначні трактування реакція лізосомального апарату нейтрофілів периферичної крові за умов запалення, яку відносять як до неспецифічного, так і до специфічного компонента стрес-синдрому. Тому метою нашого дослідження було більш детальне вивчення характеру реакції нейтрофілоцитів периферичної крові при дії на організм флогогенного стрес-фактора.

Методика

Експерименти проведені на 47 безпородних дорослих кролях обох статей масою 2,5—3,2 кг. Як флогогенний агент використовували 10 %-вий водний розчин формаліну (1 мл/кг), який вводили один раз внутрішньом'язево [10]. Тварин обстежували напередодні досліду й протягом 20 діб після введення формаліну. У всіх тварин вивчали такі показники: загальне число лейкоцитів на одиницю об'єму крові; абсолютне число нейтрофілів на одиницю об'єму крові, попередньо, вивчаючи лейкоцитарну формулу; за парціальною гранулоцитограмою визначали число клітин проліферуючого та дозріваючого пулів гранулоцитарного ряду; число лізосом у нейтрофілах периферичної крові визначали у тонких мазках крові, пофарбованих за Май-Грюнвальдом [9]; активність маркерного лізосомального ферменту кислій фосфатази (КФ 3.1.3.2.) у сироватці крові — за методом Боданського [2]; показники спонтанної агрегації лейкоцитів — за методом Fleck [2,12,13].

Результати досліду опрацьовано статистично за методом прямих різниць [10].

Результати та їх обговорення

Результати, наведені у табл. 1, свідчать, що у периферичній крові кролів асептичне запалення викликало стійкий нейтрофільний лейкоцитоз, який розвивався вже на 1-у добу після введення формаліну. Нейтрофілоз мав двофазовий характер перебігу. Спершу підвищення відбувалося протягом перших трьох діб, потім — з 6-ї по 10-у добу. У період з 4-ї по 5-у та після 10-ї доби з початку експерименту спостерігалось зниження числа нейтрофілів у периферичній крові до значень, які були меншими від початкових. Реакція гранулоцитарного паростку кісткового мозку спостерігалася з 1-ї доби та протягом усього часу обстеження й мала двофазовий характер перебігу: зменшення абсолютного числа клітин гранулоцитарного ряду протягом 1—3-ї доби після дії подразника та наступне збільшення числа гранулоцитів з 4-ї по 8-у добу. Після 9-ї доби спостерігалось зменшення аб-

Таблиця 1. Вплив асептичного запалення на число лейкоцитів і показники гранулоцитопоезу в периферичній крові кролів ($M \pm m$)

Час спостереження	Абсолютне число формених елементів крові, 1×10^9		Абсолютне число клітин гранулоцитарного ряду у 1 л кісткового мозку, 1×10^9	
	лейкоцитів	нейтрофілів	дозріваючого пулу	проліферуючого пулу
До введення формаліну	10,02	3,47	12,1	14,7
Після введення формаліну через:				
1 доб	+9,5 $\pm$ 1,13	+5,4 $\pm$ 0,81	-1,0 $\pm$ 0,02	-0,5 $\pm$ 0,04
3 доб	+15,1 $\pm$ 0,93	+12,3 $\pm$ 0,92	-3,0 $\pm$ 0,03	-2,0 $\pm$ 0,01
4 доб	+13,7 $\pm$ 1,19	+7,2 $\pm$ 0,77	-5,0 $\pm$ 0,04	-3,0 $\pm$ 0,01
5 діб	+9,8 $\pm$ 1,17	+1,1 $\pm$ 0,23	-6,0 $\pm$ 0,05	-3,5 $\pm$ 0,02
6 діб	+12,1 $\pm$ 1,26	+5,4 $\pm$ 1,25	-3,0 $\pm$ 0,04	-1,0 $\pm$ 0,01
8 діб	+14,4 $\pm$ 1,46	+19,4 $\pm$ 1,59	+1,5 $\pm$ 0,01	+3,0 $\pm$ 0,03
9 діб	+15,1 $\pm$ 1,37	+21,5 $\pm$ 1,63	0 $\pm$ 0,02	+5,0 $\pm$ 0,02
10 діб	+18,0 $\pm$ 1,29	+23,5 $\pm$ 1,80	-2,0 $\pm$ 0,02	-5,0 $\pm$ 0,06
12 діб	+14,2 $\pm$ 1,40	+10,5 $\pm$ 1,32	-3,5 $\pm$ 0,04	-3,5 $\pm$ 0,04
14 діб	+10,7 $\pm$ 1,46	+7,2 $\pm$ 1,25	-4,0 $\pm$ 0,01	-2,0 $\pm$ 0,02
16 діб	+7,7 $\pm$ 1,15	+6,3 $\pm$ 1,18	-5,0 $\pm$ 0,04	-4,0 $\pm$ 0,01
18 діб	+5,1 $\pm$ 0,87	+3,1 $\pm$ 0,87	-7,0 $\pm$ 0,06	-6,0 $\pm$ 0,03
20 діб	+1,9 $\pm$ 0,90	+0,6 $\pm$ 0,30	-7,0 $\pm$ 0,07	-4,5 $\pm$ 0,02

Примітка. Тут і в табл. 2 усі значення показників вірогідні по відношенню до вихідних значень, $P < 0,05$.

солютного числа клітин гранулоцитарного ряду, яке сягло значень, менших за початкові.

Як видно з табл. 2, уже протягом 1-ї доби після введення формаліну у тварин відбувалося зменшення числа лізосом у нейтрофілоцитах. Перебіг процесу дегрануляції також мав двофазовий характер із двома періодами підвищення інтенсивності дегрануляції — з 1-ї по 3-ю та з 6-ї по 10-у доби. Зменшення числа лізосом у циркулюючих нейтрофілах в усіх обстежених нами тварин супроводжувалося підвищенням активності лізосомальної кислій фосфатази у сироватці крові. При цьому двофазовий характер змін рівня активності даного ферменту в цілому відповідав характеру змін інтенсивності процесу дегрануляції нейтрофільних лейкоцитів. У результаті аналізу показника та індексу агрегації лейкоцитів (ПАЛ, ІАЛ) було встановлено, що посилення адгезивних властивостей нейтрофільних лейкоцитів за умов асептичного запалення відбувається з 1-ї по 10-у добу, після чого спостерігається зниження значень ПАЛ та ІАЛ, які залишаються, проте, вищими за вихідні.

Аналіз отриманих результатів дозволяє зробити такі висновки. За умов розвитку в організмі запального процесу, викликаного дією флогогенного агенту, у периферичній крові розвивається стійкий нейтрофільний лейкоцитоз. В основі цього процесу — реакція гранулоцитарного паростку кісткового мозку, яка проявляє себе на першому етапі мобілізацією резервів клітин дозріваючого пулу, а на другому — активацією гранулоцитопоезу, що виявляється гіперплазією клітин проліферуючого пулу.

Таблиця 2. Зміна показників морфофункціональних властивостей лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів при запаленні у кролів ($M \pm m$)

Час спостереження	Активність кислої фосфатази, ВЕ	Абсолютне число лейкоцитів, що мають менше 30 лізосом у 1 л крові, 1×10^9	Індекс агрегації лейкоцитів	Показник агрегації лейкоцитів, %
До введення формаліну	0,13	0,5	12,43	2,54
Після введення формаліну через:				
1 доб	+0,34 $\pm$ 0,06	+1,91 $\pm$ 0,16	+14,6 $\pm$ 1,33	+0,62 $\pm$ 0,23
3 доб	+0,44 $\pm$ 0,04	+7,33 $\pm$ 0,48	+21,9 $\pm$ 0,46	+1,08 $\pm$ 0,24
4 доб	+0,27 $\pm$ 0,08	+5,33 $\pm$ 0,29	+27,0 $\pm$ 0,41	+1,21 $\pm$ 0,23
5 діб	+0,21 $\pm$ 0,02	+2,90 $\pm$ 0,17	+28,6 $\pm$ 0,59	+1,66 $\pm$ 0,37
6 діб	+0,41 $\pm$ 0,04	+3,57 $\pm$ 0,35	+31,8 $\pm$ 0,49	+1,60 $\pm$ 0,22
8 діб	+0,40 $\pm$ 0,06	+2,48 $\pm$ 0,51	+35,6 $\pm$ 0,57	+1,99 $\pm$ 0,23
9 діб	+0,47 $\pm$ 0,06	+4,45 $\pm$ 0,18	+37,2 $\pm$ 0,60	+2,19 $\pm$ 0,24
10 діб	+0,78 $\pm$ 0,07	+7,91 $\pm$ 0,28	+39,1 $\pm$ 0,57	+2,36 $\pm$ 0,23
12 діб	+0,12 $\pm$ 0,07	+2,26 $\pm$ 0,19	+29,9 $\pm$ 0,61	+2,10 $\pm$ 0,26
14 діб	+0,07 $\pm$ 0,01	+1,14 $\pm$ 0,12	+21,8 $\pm$ 0,85	+1,71 $\pm$ 0,30
16 діб	+0,08 $\pm$ 0,03	+0,81 $\pm$ 0,07	+13,1 $\pm$ 0,55	+1,30 $\pm$ 0,21
18 діб	+0,05 $\pm$ 0,01	+0,56 $\pm$ 0,05	+7,6 $\pm$ 0,25	+1,04 $\pm$ 0,13
20 діб	+0,03 $\pm$ 0,01	+0,14 $\pm$ 0,02	+2,9 $\pm$ 0,09	+0,53 $\pm$ 0,03

Коливання рівня нейтрофільного лейкоцитозу, ймовірно, залежить як від ступеню активації гранулоцитопоезу, так і від вираженості процесу лейкоергії, що, можливо, не дозволяє визначити в циркуляції дійсне число гранулоцитів, які надходять із кісткового мозку. Згідно з даними літератури, за умов формування в організмі адаптаційного синдрому виникають умови, що сприяють адгезії лейкоцитів [1, 13]. Наприклад, підвищення активності лізосомальних ферментів, що спостерігалось внаслідок дії на організм ряду стрес-факторів (імобілізація, кровотрата, зміни барометричного тиску тощо), здатне індукувати посилення агрегаційних властивостей лейкоцитів [1,4,6—9,11]. Таким чином, одержані нами результати дозволяють припустити, що число нейтрофілів у циркуляції визначається ступенем активації гранулоцитопоезу та вираженістю лейкоергії. В усіх обстежених нами тварин зміни гранулоцитопоезу й число нейтрофільних лейкоцитів у крові супроводжувалися морфо-функціональними змінами лізосомального апарату нейтрофілів. При цьому зменшення числа лізосом у нейтрофілах відповідало підвищенню активності маркерного ферменту — кислої фосфатази у сироватці крові. Встановлено, що активність лізосомальної кислої фосфатази у крові значною мірою залежить від числа нейтрофільних лейкоцитів та ступеня їх дегрануляції, що узгоджується з літературними даними [1,3—5,7,11,14]. Однак потребує пояснень невідповідність між підвищенням активності кислої фосфатази та зменшенням числа нейтрофілів із редукованим лізосомальним апаратом у період з 14-ї до 16-ї доби включно. Можна припустити, що відбувалося підвищення активності кислої фосфатази внаслідок розвитку деструкції у

первинному осередку запалення і це могло фіксуватись у кровообігу. Крім того, виражена адгезія нейтрофілів не перешкоджає розвитку дегрануляції та зростанню активності лізосомальної кислоти фосфатази. Тим більше, можна вважати доведеним, що агрегація та дегрануляція споріднені процеси [1, 13]. Отже, ми не можемо визначити справжнє число кількості нейтрофілів, що циркулюють, тим більше з редукованим лізосомальним апаратом через те, що вони йдуть в агрегати. Але можна визначити високий рівень лізосомальної кислоти фосфатази, так як лейкоцити, що пішли в агрегати, продовжують виділяти до кровообігу лізосоми.

Таким чином, на підставі літературних даних і одержаних нами результатів можна стверджувати, що реакція лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові за умов формування в організмі запального процесу є проявом загального адаптаційного синдрому і має неспецифічний характер.

N.V.Lunina, A.A.Zelenko

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN LYSOSOMAL APPARATUS OF NEUTROPHILIC LEUCOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD UNDER ASEPTIC INFLAMMATION

The investigation was carried out on 47 adult rabbits. The reaction of lysosomal apparatus of neutrophilic leucocytes of peripheral blood was investigated under conditions of aseptic inflammation, caused by intramuscular injection of formaline. The conclusion is made that neutrophilic leucocytosis and a decrease of lysosomes in neutrophils under conditions of inflammation are nonspecific components of a general adaptation syndrome and result from the vivid granulocytopenia and leucocytosis process.

T.G.Shevchenko Pedagogical Institute,
Ministry of Education of Ukraine, Lugansk

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Абакумова Л.В.* Возрастные закономерности реакции лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов на действие стрессора неинфекционной природы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Ростов-на-Дону, 1991. — 21 с.
2. *Биохимические методы исследования в клинике* / Под ред. А.А.Покровского. — М.: Медицина, 1969. — 652 с.
3. *Горизонтов П.Д.* Механизмы развития стресс-реакции и адаптивное значение изменений в системе крови // Нервные и эндокринные механизмы стресса: Сб. науч. тр. — Кишинев: Штиница, 1980. — С. 79—91.
4. *Горизонтов П.Д.* Система крови как основа резистентности и адаптации организма // Физиол. журн., 1981. — 27, № 3. — С. 317—321.
5. *Козун Н.А.* Изменения лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов в процессе адаптации организма к действию стрессоров различной интенсивности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 1988. — 17 с.
6. *Лунина Н.В., Козюк П.М.* Влияние острой кровопотери на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 1978. — Вып. 2. — С. 76—78.
7. *Лунина Н.В., Коваль С.Б.* Реакция лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов на действие стрессора неинфекционной природы // Физиол. журн. — 1982. — 28, № 6. — С. 736—741.
8. *Лунина Н.В., Коваль С.Б., Скрипка Е.В., Полтавский А.Ф., Шинкарев С.И.* Влияние некоторых факторов среды на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов // Структурные и функциональные изменения в тканях производных мезенхимы при нормальном развитии и условиях действия неблагоприятных факторов: Тез. докл. Респ. конф. — Ч. 1. — К.: Наук. думка, 1982. — С. 168—169.
9. *Пигаревский В.Е.* Зернистые лейкоциты и их свойства. — М.: Медицина, 1978. — 128 с.
10. *Селье Г.* Очерки об адапционном синдроме: Пер. с англ. — М.: Медицина, 1960. — 254 с.
11. *Скрипка Е.В.* Влияние кровопотери на изменение активности лизосомальных ферментов нейтрофильных лейкоцитов и уровень артериального давления // Физиол. журн. — 1983. — 29, № 4. — С. 439—443.