

льные регуляторы интен-
— 1984. — 70, № 5. —
аге. — Новосибирск: На-
свертываемость крови. —
81. — С. 153—157.
ного аппарата клетки //
750.
Наука, 1983. — 232 с.
1960. — 254 с.
Физiol. журн. — 1984.
и естественного лизиса
У potentiates the effect of
тгасол. — 1984. — 83,
Inst. Mitt. — 1983. —
working rat hearts by
Cardiol. — 1984. — 16.
Amer. J. Physiol. — 1982.
asis: facts and hypotheses

Матеріал надійшов
до редакції 27.12.93

УДК 612.112.91

В.І.Шейко, Н.В.Луніна

Стан гранулоцитарної системи за умов іммобілізаційного стресу при імуностимуляції

Експерименти проведено на 36 кроликах. Животні I та II груп подвергались іммобілізації в положенні лежа на спині в течіє 12 ч. Кроликам II групи з цією стимуляції іммунної системи вводили внутрібрюшинно вилозен, в течіє 7 сут до та після іммобілізації. Введення вилозена вызвало розвиток нейтрофільного лейкоцитоза, збільшення числа Т-лімфоцитів, підвищення концентрації циркулюючих іммунних комплексів. Після іммобілізації у животних обидвох груп розвивався нейтрофілез з дегрануляцією нейтрофілів, що вызвало підвищення активності кислої фосфатази. Во II групі нейтрофілез та дегрануляція були менше выражено та тривали. Зміни значень показателей характеризуючих становлення іммунної системи, після іммобілізації, в I та II групах були однозначними, але менше выражено у животних со стимуляцією іммунної системи. Таким чином, стимуляція іммунної системи снижає активність лізосомального апарату, після іммобілізації, можливо, в цих умовах регуляція гомеостаза осуществляється з лімітованим участием лізосомальних ферментів.

Вступ

У доступних для нас публікаціях містяться відомості про те, що нейтрофільні лейкоцити та імунокомпетентні клітини забезпечують імунореактивні властивості організму [3, 5, 6]. Під час вивільнення медіаторів міжклітинної взаємодії (лімфокінів) клітини лімфоїдного ряду впливають на різні функції нейтрофілів: міграцію [18], агломераційні властивості, хемотаксис [13], дегрануляція азурофільних і специфічних гранул [19]. Ця взаємодія спостерігається практично на всіх етапах гранулоцитопоезу [3, 15].

З іншого боку, нейтрофіли, відчуваючи на собі вплив лімфоїдних клітин, самі бувають джерелом регулюючих сигналів. Згідно з даними літератури, нейтрофіли беруть безпосередню участь у імунологічному реагуванні організму інгібуванням або стимуляцією функцій лімфоцитів [3, 16], впливом на диференціацію В-клітин у плазматичні клітини [17], елемінацією циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [14].

Важливу роль у підтримці гомеостазу за умов стресорного подразнення грає імунна система організму [7]. При формуванні адаптиційного синдрому розвивається перебудова у гуморальній і клітинній ланці імунітету, що призводить до змін при утворенні, диференціації, міграції та функціональному стані імунокомпетентних клітин [14].

Дослідженнями в нашій лабораторії встановлено, що під час дії на організм факторів неінфекційної природи розвивається нейтрофільний лейкоцитоз, що супроводжується зменшенням числа лізосом у нейтрофілоцитах, яке зумовлене вивільненням лізосомальних ферментів у плазмі крові [1, 4—6, 10—12] і їх впливом на імунну систему організму [5, 6].

Таким чином, враховуючи вище сказане, можна припустити, що функціональна активність імунної системи при стресі визначається й ре-

акцією гранулоцитарної системи, та участю в цих реакціях лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів.

Метою нашого дослідження було вивчення реакції лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів за умов активації імунної системи під час дії стресора неінфекційної природи (іммобілізація).

Методика

Експерименти проведено на 36 статевозрілих безпорідних кролях обох статей масою 2—2,5 кг. Тварин розподілили на дві групи. До I групи (контрольна) ввійшли тварини, яких піддавали іммобілізації на спині протягом 12 год, до II (дослідна) — тварини у яких іммобілізацію відтворювали на фоні стимуляції імунної системи. Останню викликали вілозеном — небілковим, низькомолекулярним екстрактом вілочкової залози великої рогатої худоби. Препарат тваринам вводили в черевну порожнину (100 мкг/100 г) протягом 7 діб до і після іммобілізації [2].

Вивчали такі показники: кількість лейкоцитів в одиниці об'єму крові, відносний і абсолютний рівень нейтрофільних лейкоцитів, гранулоцитопоез за кількістю клітин дозріваючого та проліферуючого пулів. Активність лізосомальної кислої фосфатази в сироватці крові визначали за методом Боданського [9]. Про стан імунної системи свідчили: відносна та абсолютна кількість лімфоцитів в одиниці об'єму крові, число Т-лімфоцитів у системі Е-РУК, ЕА-РУК, а також Т-теофілінчутливі і Т-теофіліністікі лімфоцити, вміст В-лімфоцитів у системі ЕАС, концентрація ЦІК [9].

Результати та їх обговорення

Введення вілозену викликало абсолютний нейтрофільний лейкоцитоз, який був зумовлений активацією гранулоцитопоезу ($58,7 \pm 2,84$; $P < 0,01$), збільшення числа Т-лімфоцитів у тому числі Т-активних ($1,5 \pm 0,1$; $P < 0,01$) і Т-теофілінрезистентних ($1,7 \pm 0,1$; $P < 0,001$), підвищення концентрації ЦІК ($30,8 \pm 5,38$; $P < 0,01$).

Після 12-годинної іммобілізації в крові кролів I групи відмічався абсолютний нейтрофільний лейкоцитоз (таблиця) протягом 12 діб експерименту. До кінця спостереження (14 доба) число нейтрофілів не відрізнялося від вихідного значення. У тварин II групи після іммобілізації розвивався нейтрофільний лейкоцитоз, але він продовжувався 4 доби (див. табл.). Протягом 3 діб кількість нейтрофільних лейкоцитів не відрізнялася від такої у контрольних тварин, а з 4-ї доби і до кінця експерименту почалося зменшення вмісту нейтрофілів.

Нейтрофільний лейкоцитоз у контрольних тварин був зумовлений стимуляцією гранулоцитопоезу з максимумом на 10-ту добу, коли спостерігалась активація дозріваючого ($+8,2 \pm 1,9$; $P < 0,002$) та проліферуючого ($+2,0 \pm 0,52$; $P < 0,004$) пулів. Стимуляція гранулоцитопоезу у кролів II групи після стресорного впливу була відсутня.

У тварин як контрольної, так і дослідної груп через добу після впливу стрес-фактора виявлено дегрануляцію нейтрофільних лейкоцитів (див. табл.). У подальші строки дослідження абсолютна кількість дегранульованіх нейтрофілів продовжувала підвищуватися, з максимумом на 3-ту добу. Поновлення числа нейтрофілоцитів з повним набором лізосом відбувалося на 14-ту добу дослідження. У тварин II групи зменшення кількості лізосом в нейтрофільних лейкоцитах продовжувалося 10 діб, і в перші дві доби було

Вплив іммобілізації на показники

Показник	Група тварин	До іммобілізації	Після іммобілізації
Абсолютне число нейтрофілів, $\times 10^9/\text{л}$	I	$3,7 \pm 0,38$	—
P	—	—	—
II	$3,4 \pm 0,15$	$5,4 \pm 0,5$	—
P	—	$< 0,00$	—
P ₁	—	—	—
Абсолютне число нейтрофілів, $\times 10^9/\text{л}$	I	0	—
P	—	—	—
II	0	0	0
P	—	—	—
P ₁	—	—	—
Активність кислої фосфатази, ЕО	I	—	—
P	—	—	—
II	0	0	0
P	—	—	—
P ₁	—	—	—

Примітка: P — вірогідність в P₁ — між першою та другою

більш виражене ніж у кожніх після іммобілізації більшим ніж у контролю клітини, що містили менша кількість була більш інтенсивна лізосом. Активність кислої фосфатази у контролю тварин відповідала нейтрофільних лейкоцитів.

Дослідження показників свідчить, що у тварин I гр

лізосомальних
ального апарату
еми під час дії

млях обох ста-
групи (конт-
роліні протягом
створювали на
вілозеном —
лози великої
ожину (100

об'єму крові,
гулоцитопоез
Активність
за методом
а абсолютна
тів у системі
лімфоцитів,

цитоз, який
 $P < 0,01$,
 $< 0,1$; $P < 0,01$)
нцентрації

явся абсо-
сперимен-
нялося від
ався ней-
.). Протя-
їд такої у
ося змен-

ений сти-
оли спо-
суючого
II групи

и впливу
їв (див.
нульова-
то добу.
бувалося
лізосом
би було

Вплив іммобілізації на показники гранулоцитарної системи за умов імуностимулляції ($M \pm m$)

Показник	Група тварин	До іммобілізації та введення вілозену	Після введення вілозену	Після іммобілізації тварин через								
				1 добу	2 доби	3 доби	4 доби	6 діб	8 діб	10 діб	12 діб	14 діб
Абсолют- нечисло нейтро- філів, $\times 10^9/\text{л}$												
I	3,7 ± $\pm 0,38$	—	+1,9 ± $\pm 0,46$	+2,3 ± $\pm 0,44$	+3,2 ± $\pm 0,46$	+2,6 ± $\pm 0,44$	+2,7 ± $\pm 0,51$	+2,2 ± $\pm 0,62$	+2,1 ± $\pm 0,51$	+1,4 ± $\pm 0,59$	+0,7 ± $\pm 0,51$	
P	—	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,005	<0,004	<0,04	>0,2	
II	3,4 ± $\pm 0,15$	5,4 ± $\pm 0,5$	+2,1 ± $\pm 0,51$	+2,5 ± $\pm 0,51$	+2,6 ± $\pm 0,43$	+1,3 ± $\pm 0,44$	+0,4 ± $\pm 0,52$	-0,3 ± $\pm 0,39$	-1,1 ± $\pm 0,34$	-1,3 ± $\pm 0,36$	-1,9 ± $\pm 0,31$	
P	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	
P ₁	—	—	>0,5	>0,5	>0,5	<0,05	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
Абсолют- нечисло нейтро- філів, $\times 10^9/\text{л}$												
I	0	—	+1,1 ± $\pm 0,07$	+1,7 ± $\pm 0,06$	+4,0 ± $\pm 0,15$	+3,2 ± $\pm 0,2$	+3,2 ± $\pm 0,17$	+1,9 ± $\pm 0,13$	+0,6 ± $\pm 0,09$	+0,2 ± $\pm 0,1$	+0,2 ± $\pm 0,63$	
P	—	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,006	>0,8	
II	0	0	+1,9 ± $\pm 0,23$	+2,4 ± $\pm 0,16$	+2,4 ± $\pm 0,17$	+1,8 ± $\pm 0,2$	+1,4 ± $\pm 0,15$	+1,1 ± $\pm 0,14$	+0,5 ± $\pm 0,12$	+0,23 ± $\pm 0,11$	+0,2 ± $\pm 0,01$	
P	—	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,1	>0,5	
P ₁	—	—	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	>0,5	>0,5	>0,5	
Активність кислої фосфатази, ЕО												
I	—	—	+0,3 ± $\pm 0,01$	+0,3 ± $\pm 0,02$	+0,4 ± $\pm 0,01$	+0,36 ± $\pm 0,022$	+0,38 ± $\pm 0,024$	+0,27 ± $\pm 0,023$	+0,22 ± $\pm 0,015$	+0,19 ± $\pm 0,014$	0	
P	—	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,002	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	
II	0	0	+0,1 ± $\pm 0,2$	+0,7 ± $\pm 0,028$	+0,14 ± $\pm 0,008$	+0,1 ± $\pm 0,005$	+0,1 ± $\pm 0,009$	+0,08 ± $\pm 0,006$	+0,08 ± $\pm 0,005$	+0,05 ± $\pm 0,004$	0	
P	—	—	<0,01	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	
P ₁	—	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	

Примітка: Р — вірогідність відмінностей показників порівняно з вихідними значеннями,
Р₁ — між першою та другою групою.

більш виражене ніж у контрольних. Слід зазначити, що, хоч на 1-шу і 2-гу добу після іммобілізації число дегранульованих нейтрофілоцитів було більшим ніж у контрольних тварин, серед нейтрофілів мали перевагу клітини, що містили менше 30 лізосом, в той час, як у контролі дегрануляція була більш інтенсивною, нейтрофіли мали переважно менше 10 лізосом. Активність кислої фосфатази (див. табл.) як у дослідних, так і в контрольних тварин відповідала інтенсивності ступеня дегрануляції нейтрофільних лейкоцитів.

Дослідження показників, що характеризують стан імунної системи свідчить, що у тварин I групи після стресорного впливу розвивалася загаль-

на і Т-лімфопенія протягом 10 діб з максимумом на 3-тю добу ($-2,4 \pm 0,02$; $P < 0,001$; $-2,1 \pm 0,15$; $P < 0,001$). На 12-14-ту добу число Т-лімфоцитів не відрізнялося від норми. Після іммобілізації у тварин II групи починаючи з 3-ї до 14-ї доби також розвивалася Т-лімфопонія ($-1,1 \pm 0,23$; $P < 0,001$).

На відміну від тварин I групи в яких кількість В-лімфоцитів після іммобілізації збільшилася ($+0,8 \pm 0,11$; $P < 0,001$) при стимуляції імунної системи стресорний вплив не викликав зміну числа В-лімфоцитів протягом 6 діб. В наступні строки дослідження їх кількість зменшувалася приблизно так, як і у контролі.

При визначені концентрації ЦІК у тварин I групи виявили, що протягом 3 діб після іммобілізації концентрація ЦІК була підвищеною, з максимумом на 2-гу добу ($+25,1 \pm 4,46$; $P < 0,001$). Починаючи з 4-ї доби і до кінця експерименту спостерігалося зниження рівня ЦІК порівняно з вихідними значеннями, лише на 8-му добу концентрація ЦІК перевищила вихідну. Така ж закономірність у змінах концентрації ЦІК, після впливу стрес-фактора, спостерігалася у тварин II групи.

Таким чином, стимуляція імунної системи зменшує активацію лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів після іммобілізації, можливо за цих умов регуляція гомеостазу супроводжується лімітованою участю лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів, що призводить до незначних змін як в клітинній, так і в гуморальній ланках імунної системи.

V.I.Sheiko, N.V.Lynina

STATE OF GRANULOSE SYSTEM ON CONDITIONS OF IMMOBILIZED STRESS PROVIDING IMMUNE STIMULATION

The experiments have been carried out on 36 rabbits. The animals of the 1st and 2nd groups were put to immobilization lying on their backs for 12 hours. The rabbits of the 2nd group were injected velozenum into peritoneum for 7 days before and after immobilization in order to stimulate immune system. 7-days injection of velozenum caused the evolution of neutrophile leucocytosis, raised the concentration of circulating immune sets. After immobilization neutrophilesis with degradation of neutrophiles in both groups of animals that raised activation of acid phosphorus. Neutrophilesis and degradation in the 2nd group were less marked and protracted. The changes of indices, that characterize the state of immune system after immobilization, were purposeful in both 1st and 2nd groups identically, but those changes were less marked in the group of animals which immune systems had been stimulated. So, the stimulation of immune system reduces the activation of lysosomal apparatus after immobilization. The regulation of homeostasis is possibly implemented in these conditions with the limited assistance of lysosomal ferments.

Pedagogical Institute, Lugansk
Ministry of Education of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Агафонова Н.А., Луніна Н.В. Вплив α -токоферола на реакцію лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів при дії іммобілізаційного стресору // Фізіол. журн. — 1987. — 33, № 1. — С. 57—63.
- Барабай В.А., Орел В.Э., Лукашова Р.Г., Дзятковская Н.Н., Степура Н.Н. Триболовимінисценция крові мишей в умовах іммунизации и введення гуморальних факторів тимуса // Фізіол. журн. — 1991. — 36, № 2. — С. 111—113.
- Бережная Н.М. Нейтрофіли і іммунологічний гомеостаз. — К.: Ніук. думка, 1988. — 192 с.
- Воєк С.В. Вплив іммобілізації на морфофункциональні властивості лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів в умовах блокади β -адренорецепторів // Фізіол. журн. ім. І.М. Сеченова. — 1993. — 79, № 9. — С. 42—47.
- Добровольська В.Є., Луніна Н.В. Вплив лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів на імунореактивність організму за умов іммобілізаційного стресу. — В кн.: Тези доп. на XIV з'їзді української фармакологіческої ради. — М.: Медицина, 1987. — С. 187—188.
- Добровольська В.Є., Шейко В.І. Вплив відсутності нейтрофілів на імунореактивність організму за умов іммобілізації // Тези доп. на XIV з'їзді української фармакологіческої ради. — М.: Медицина, 1987. — С. 187—188.
- Дыгай А.М., Шахов В.П. Результаты применения гуморальных факторов в лечении ожогов // Тезисы научных конференций. — Томск, 1989. — 224 с.
- Инструкция по применению фармакологических компонентов // Тезисы научных конференций. — Томск, 1989. — 224 с.
- Лабораторные методы исследования // Тезисы научных конференций. — М.: Медицина, 1987. — С. 340—343.
- Луніна Н.В., Абакумова Л.В. Адаптация крохмиков к стрессу // Фізіол. журн. — 1991. — 340—343.
- Луніна Н.В., Абакумова Л.В. Нейтрофильные лейкоциты // Фізіол. журн. — 1991. — 340—343.
- Луніна Н.В., Чехов А.А. Регуляторные механизмы стресса // Фізіол. журн. — 1991. — 340—343.
- Медуницын Н.В., Литвинов В.А. Клеточное взаимодействие // Фізіол. журн. — 1991. — 340—343.
- Петров Р.В. Роль гормонов в регуляции гомеостаза // Вестн. АМН СССР. — 1980. — № 1. — С. 1—10.
- Чертков И.Л., Гуревич О.А. Медицина, 1984. — 236 с.
- Harris P. Neutrophil production // Immunol. — 1982. 50, № 3.
- Le Thi Bich Thuy A., Saman induced human B-cell differentiation of neutrophiles // J. Immunol. — 1982. 50, № 3.
- Rocklin R.E. Products of actin migration inhibitory factor (AMI) // Immunol. — 1982. 50, № 3.
- Smith R., Bowman B., Speck C. Neutrophils // Int. J. Immunol. — 1982. 50, № 3.

Луган. пед. ін-т М-ва освіти України

ю добу (-2,4±0,02; T-лімфоцитів не рупи починаючи з 0,23; P<0,001).

-лімфоцитів після уляції імунної синаптическітів протягом 6 віталася приблизно

явили, що протягом і-ї доби і до кінця ніяко з вихідними змінила вихідну. пливу стрес-фактору

штурмуюча активацію та іммобілізації, тається лімітованою в, що призводить нокаутах імунної синаптическітів

and 2nd groups were
d group were injected
to stimulate immune
neutrophilosis, raised the
with degradation of
a. Neutrophilosis and
of indices, that char-
in both 1st and 2nd
which immune systems
activation of lysosomal
implemented in these

мального апарату
кориса // Фізіол.

Н.Н. Триболовим
них факторов ти-
к. думка, 1988. —

и лизосомального
торов // Фізіол.
нейтрофільних лейко-
т. — В кн.: Тези

196. Т. 42, № 1-2

- доп. на XIV з'їзді українського фізіологічного товариства ім. І.П.Павлова. — К., 1994. — С. 187—188.
6. Добровольська В.Є., Шейко В.І. Вплив стресорної активації лізосомального апарату циркулюючих нейтрофілів на стан клітинного імунітету за умов пригнічення гранулоцитопоєзу. — В кн.: Тези доп. на XIV з'їзді українського фізіологічного товариства ім. І.П.Павлова. — К., 1994. — С. 188.
 7. Дыгай А.М., Шахов В.Л. Роль межклеточных взаимодействий в регуляции гомеостаза. — Томск, 1989. — 224 с.
 8. Инструкция по применению вилозена, регистрационный номер 87.1186/5. утверждена фармакологическим комитетом 6.11.1987.
 9. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В.Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
 10. Луніна Н.В., Абакумова Л.В. Роль лизосомального апарату нейтрофільних лейкоцитов в адаптации кроликов однومесячного возраста к действию иммобилизационного стрессора. — В кн.: Функциональные резервы и адаптация. Мат. Всес. конференции. — К., 1990. — С. 340—343.
 11. Луніна Н.В., Абакумова Л.В. Возрастные особенности реакции лизосомального апарату нейтрофільных лейкоцитов периферической крови кроликов на действие иммобилизации // Физiol. журн. — 1991. — 37, № 2. — С. 60—65.
 12. Луніна Н.В., Чехов А.А. Роль гіпоталамо-гіпофізо-адreno-кортикаліної системи в формуванні реакції лизосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів при іммобілізаційному стресі // Фізiol. журн. — 1992. — 38, № 6. — С. 55—60.
 13. Медуніцьки Н.В., Литвинов В.И., Мороз А.М. Медиаторы клеточного иммунитета и межклеточного взаимодействия. — М.: Медицина, 1980. — 262 с.
 14. Петров Р.В. Роль гормонов и медиаторов в функционировании иммунной системы // Вестн. АМН СССР. — 1980. — № 7. — С. 11—17.
 15. Чертков И.Л., Гуревич О.А. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. — М.: Медицина, 1984. — 236 с.
 16. Harris P. Neutrophil product with lymphocyte activating factor activity // J.Clin. and Exp. Immunol. — 1982. 50, № 3. — P. 474—478.
 17. Le Thi Bich Thuy A., Samarat C., Brochier J. et al. Suppression of the late stage of mitogen-induced human B-cell differentiation by Fc receptor (FcR) released from polymorphonuclear neutrophiles // J. Immunol. — 1981. — 127, № 5. — P. 1229—1303.
 18. Rocklin R.E. Products of activated lymphocytes: leukocyte inhibitory factor (LIF) distinct from migration inhibitory factor (MIF) // J. Immunol. — 1974. — 112, № 6. — P. 1461—1466.
 19. Smith R., Bowman B., Speciale S. Interleukin 1 stimulates granules exocytosis from human neutrophils // Int. J. Immunopharmacol. — 1986. — 1986, № 1. — P. 33—40.

Луган. пед. ін-т М-ва освіти України

Матеріал надійшов
до редакції 28.11.95