

Н. В. Луніна, В. В. Степаненко, С. Б. Коваль, О. О. Гончар

Функціональний стан моноцитів і деякі механізми його регуляції при розвитку стрес-реакції

В модельных исследованиях на лабораторных животных, воспроизводя экспериментальную селективную мелодепрессию, установлено, что при реализации в организме неспецифического стресс-синдрома, в результате иммобилизации, в циркулирующих нейтрофилах происходят реактивные изменения лизосомального аппарата определяющие увеличение в сыворотке крови активности некоторых их лизосомальных ферментов, что непосредственно может оказывать влияние на ряд показателей функциональной активности моноцитов крови.

ВСТУП

Вивченню реактивних функціональних змін моноцитів крові, як складової частини системи мононуклеарних фагоцитів, нині приділяється певне значення [4]. Саме у процесах запалення та регенерації, у неспецифічному протиінфекційному захисті, у специфічному клітинному імунитеті, реакції цієї системи можуть набувати загального характеру, а її структурні елементи нарівні з регуляторними функціями здатні безпосередньо реалізувати ефекторні відповіді [20, 26]. Система мононуклеарних фагоцитів, один з важливих факторів неспецифічної резистентності організму, бере участь також у реакціях гомеостазу при розвитку стрес-синдрому як однієї зі стадій загально-адаптаційного процесу [9, 20, 21, 24]. Але біологічні механізми ініціації цієї системи в організмі не досконало вивчені, а дані доступної нам літератури неоднозначні або суперечливі [20, 27]. Так, встановлено, що поряд з дією гормонів на активність моноцитів [18] деякий вплив можуть здійснювати нейтрофіли [1]. Останні у зв'язку зі з'ясованою функцією нейтрофілів у численних фізіологічних реакціях і патологічних процесах відносяться до універсаль-

них ланок, які забезпечують гомеостаз організму людини та теплокровних тварин [7, 23, 28]. Особливе значення це набуває при розвитку в організмі стрес-синдрому, коли циркулюючі у крові нейтрофіли залучаються до генералізованих каскадних гуморальних реакцій, спрямованих на підтримання відповідності реалогічних властивостей крові [3, 11], та можуть розглядатися як одна зі стреслімітуючих систем організму [6].

Враховуючи вище відзначені факти, метою нашої роботи було вивчення деяких особливостей впливу циркулюючих нейтрофілів на функціональний стан моноцитів крові при розвитку в організмі тварин неспецифічного стрес-синдрому.

МЕТОДИКА

Експерименти проведено на 95 безпорідних кролях обох статей масою 2,5 - 3 кг, яких утримували за умов віварію при 18 - 22 ° С і на звичайному раціоні харчування. При експериментах дотримувалися "Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин".

Кролів було поділені на дві групи. У тварин I контрольної групи відтворювали

розвиток неспецифічного стрес-синдрому іммобілізацією кролів у положенні на спині протягом 12 год [10]. Тварини II дослідної групи таку іммобілізацію проводили на фоні депресії гранулоцитопоезу.

Пригнічення гранулоцитопоезу здійснювали пероральним введенням міелосану [12] (АО “Октябрь” Санкт-Петербург) у дозі 10 мг/добу протягом 5 - 7 діб до зменшення абсолютної кількості нейтрофілів у периферичній крові на 45 - 50%.

У кролів обох груп вивчали стан моноцитів крові та циркулюючих нейтрофілів. Моноцити з крові виділяли за допомогою центрифугування у градієнті щільності триомбразт - фікол з наступним використанням здатності моноцитів до адгезії до скла [14].

У моноцитах ідентифікували цитоплазматичну РНК з розрахунком середнього цитохімічного коефіцієнту [2], а також проводили модифікований інтегральний НСТ-тест з наступним визначенням його показників: відсоток функціонально активних клітин, коефіцієнт функціональної активності, відносний коефіцієнт функціональної активності, відсоток фагоцитуючих клітин і коефіцієнт активності фагоцитозу [19].

Обчислювали абсолютну кількість нейтрофілів загальноприйнятим методом. У нейтрофілах візуалізували первинні лізосоми та реакції лізосомального апарату [16], а також ступінь та індекс дегрануляції [5]. Одночасно у сироватці крові тварин обох груп визначали активність кислоти фосфатази [8].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом прямих різниць [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведеного дослідження свідчать, що у кролів I групи при 12-годинній іммобілізації відбувалися зміни моноцитів крові. Так, підвищувалися показники НСТ-тесту, сягаючи найбільших значень на четверту добу. На чотирнадцяту добу експерименту показники не відрізнялися від вихідних значень (рис.1). Як відомо, НСТ-тест характеризує

активність оксидаз фагосом, дегідрогеназ мітохондрій, гліколізу та пентозофосфатного циклу, що відображає функціональний стан моноцитів [19].

Після іммобілізації протягом двох діб наявність цитоплазматичної РНК у моноцитах була нижчою порівняно з вихідними значеннями, а, починаючи з третьої доби, наявність цитоплазматичної РНК була більшою, ніж у доіммобілізаційний період. На чотирнадцяту добу дослідження рівень цитоплазматичної РНК був аналогічним, як і до іммобілізації (табл.1).

Така динаміка цитоплазматичної РНК є типовою для постстресорного стану організму й співвідноситься з катаболічною та анаболічною фазами формування “адаптаційного сліду” [13]. Тобто, реалізація в організмі стрес-синдрому внаслідок 12-годинної іммобілізації [10] зумовлює зміни метаболізму цитоплазматичної РНК моноцитів крові.

Одночасно у I групі кролів 12-годинна іммобілізація призводила до розвитку нейтрофілозу з максимумом на четверту добу після стресової дії (рис.2). Лише на шістнадцяту добу кількість нейтрофілів у периферичній крові була такою ж, як і до іммобілізації.

При неспецифічному стрес-синдромі, викликаному іммобілізацією, нейтрофілоз зумовлюється надходженням кісткомозкового резерву нейтрофілів у перші чотири доби та активізацією надалі процесів гранулоцитопоезу [10].

У кролів I групи розвиток нейтрофілозу супроводжувався зміною функціонального стану лізосомального апарату нейтрофілів. Так, у постіммобілізаційний період спостерігалось зменшення кількості первинних лізосом у нейтрофілах, про що також свідчать і показники ступеня та індексу дегрануляції. Найбільших значень вони сягали на четверту добу постіммобілізаційного періоду. У периферичній крові значно збільшилася абсолютна кількість дегранульованих нейтрофілів. На чотирнадцяту добу дослідження вказані показники не відрізнялися від вихідних значень (див. рис.2).

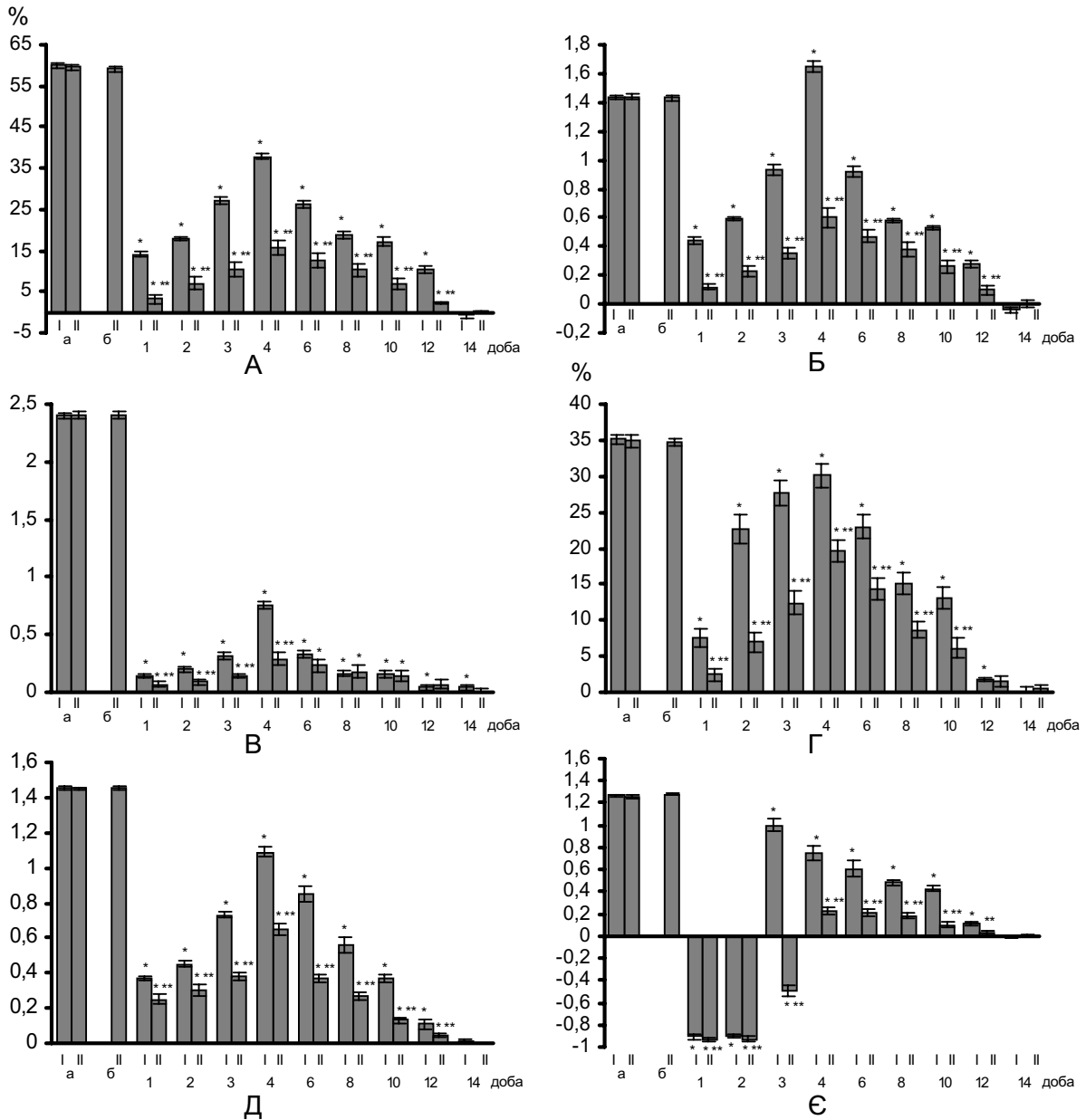


Рис. 1. Зміна показників функціонального стану моноцитів: А – відсоток функціонально активних клітин; Б – коефіцієнт функціональної активності; В – відносний коефіцієнт функціональної активності; Г – відсоток фагоцитуючих клітин; Д – коефіцієнт активності фагоцитозу; Е – РНК, середній цитохімічний коефіцієнт. Контрольна група тварин – I та дослідна група тварин – II. З 1-ї по 14-ту добу імобілізації показано приріст значень показників до вихідного стану (а) та стану після введення мелосану (б).

* вірогідність різниць показників порівняно з вихідними значеннями; ** вірогідність різниць показників між групами.

У кролів I групи, поряд з реакціями моноцитів крові та циркулюючих нейтрофілів у сироватці крові, значно підвищувалася ак-

тивність кислої фосфатази (див. рис.2). Це спостерігалось одночасно зі змінами лісозомального апарату нейтрофілів на фоні нейт-

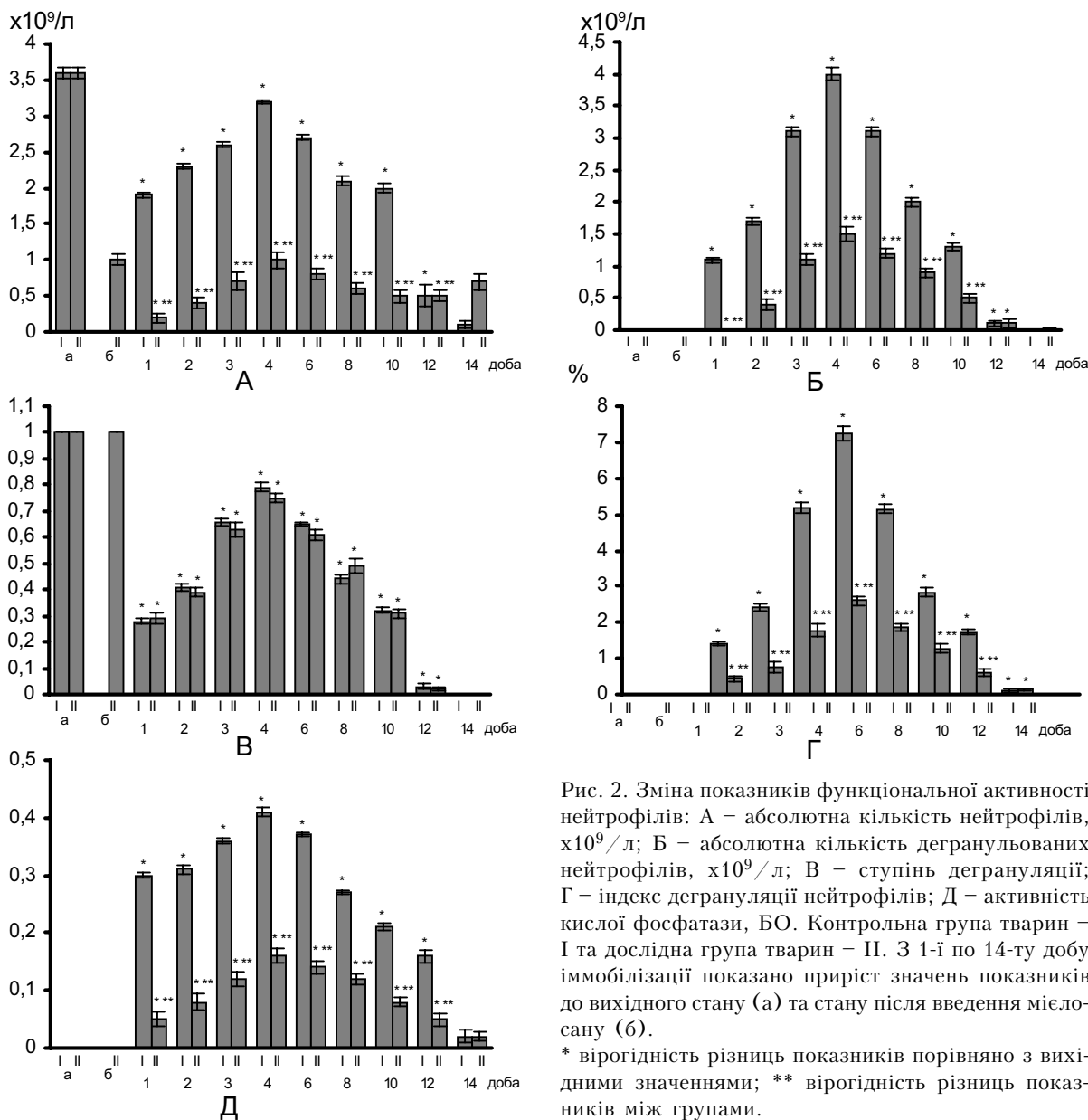


Рис. 2. Зміна показників функціональної активності нейтрофілів: А – абсолютна кількість нейтрофілів, $\times 10^9/\text{л}$; Б – абсолютна кількість дегранульованих нейтрофілів, $\times 10^9/\text{л}$; В – ступінь дегрануляції; Г – індекс дегрануляції нейтрофілів; Д – активність кислої фосфатази, БО. Контрольна група тварин – I та дослідна група тварин – II. З 1-ї по 14-ту добу іммобілізації показано приріст значень показників до вихідного стану (а) та стану після введення міелосану (б).

* вірогідність різниць показників порівняно з вихідними значеннями; ** вірогідність різниць показників між групами.

рофільозу. Але зміни активності у сироватці крові кислої фосфатази, як маркерного ферменту лізосом, можуть характеризувати лізосомальні реакції клітин різних тканин організму [17]. Тому було застосовано міелосан як специфічний засіб міелодепресивної дії, що дозволяє вибірково зменшувати у циркуляції кількість нейтрофілів [12].

Так, у кролів II групи, яким іммобілізацію проводили на фоні пригнічення грану-

лоцитопоезу, було встановлено, що у циркуляції значно зменшена абсолютна кількість нейтрофілів порівняно з аналогічними результатами у динаміці спостережень за тваринами I групи (див. рис.2). Абсолютна кількість нейтрофілів не відновлювалася протягом усіх шістнадцяти діб досліджень після проведеної іммобілізації. При цьому у нейтрофілах крові відбуваються зміни їх лізосомального апарату, які характеризуються відповідними по-

казниками дегрануляційної реакції (див. рис.2). Остання має саме такий напрям, як і у тварин I групи. Поряд з цими реактивними змінами циркулюючих нейтрофілів у сироватці крові кролів II групи спостерігається підвищення активності кислої фосфатази (див. рис.2). Але у даному випадку рівень ферментів цього маркерного лізосомального ферменту значно нижчий, ніж у I групі тварин, де не була застосована експериментальна мієлодепресія. Таким чином, підвищення активності кислої фосфатази у сироватці крові кролів при розвитку в їхньому організмі неспецифічного стрес-синдрому, може залежати від прояву лізосомальних реакцій і кількості саме таких нейтрофілів у циркуляторному руслі. Отже, це ще раз доводить можливість участі нейтрофілів крові у загально-адаптаційних генералізованих гуморальних реакціях на рівні цілісного організму [11, 3, 7].

Крім того, нами встановлено, що у тварин II групи на фоні зниження нейтрофілозу у моноцитах крові відбуваються зміни, які кількісно відрізняються від таких у кролів I групи (див. табл.1). Так, показники НСТ-тесту у моноцитах тварин II групи є нижчими, а зниження наявності цитоплазматичної РНК у моноцитах їх крові було більш довготривалим. Тобто наші результати свідчать про можливість, у певних випадках, впливу циркулюючих нейтрофілів на показники функціональної активності моноцитів крові. А саме, при реалізації в організмі тварин неспецифічного стрес-синдрому, на фоні нейтрофілозу у циркулюючих нейтрофілах виникають реактивні зміни їх лізосомального апарату, що безпосередньо визначає рівень ферментів деяких лізосомальних ензимів, які можуть впливати на стан моноцитів крові. Ці факти, мабуть, набувають певного біологічного значення, бо поряд з можливістю клітин системи мононуклеарних фагоцитів вплинути на функції нейтрофілів [22, 25], з'ясовано також наявність в організмі оберненого зв'язку.

Таким чином, при розвитку у цілісному організмі неспецифічного стрес-синдрому,

на фоні нейтрофілозу, циркулюючі нейтрофіли здатні чинити дію як на плазменну ланку гемостазу [3, 7], безпосередньо активуючи фактор Хагемана [11], так і впливати на активність моноцитів у крові, які є структурно-функціональною частиною всієї системи мононуклеарних фагоцитів [20].

**N.V. Lunina, V.V. Stepanenko, S.B. Koval,
O.A. Gonchar**

FUNCTIONAL CONDITION OF MONOCYTES AND SOME MECHANISMS OF ITS REGULATION BY THE DEVELOPMENT OF STRESS-REACTION

In model researches on laboratory animals, reproducing experimental selective mielodepression, is established, that at a realization in an organism of a unspecific stress-syndrome, in an outcome immobilization, in circulating neutrofiles the jet changes lysosomal of the vehicle determining increase in whey of activity some them lysosomal enzymes happen, that immediately can render influence to a series of parameters of functional activity monocytes of blood.

*T.G. Shevchenko State pedagogical university
Ministry of Public Education of Ukraine,
Lugansk;*

*A.A. Bogomoletz Institute of Physiology
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адаменко Г.П. Метод оценки взаимодействия нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов крови в смешанной культуре клеток // Клини. лаб. диагностика. - 1993. - № 4. - С. 53-55.
2. Бутенко З.А., Глузман Д.Ф., Зак К.П. и др. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кроветворных органов. - К.: Наук. думка, 1974. - С. 7-17.
3. Вовк С.В., Луніна Н.В., Добровольська В.Є. та ін. Деякі аспекти впливу адренорецепторів на лізосомі нейтрофільних гранулоцитів за умов формування адаптаційного синдрому // Фізіол. журн. - 1996. - 42, № 1-2. - С. 83-90.
4. Возианов А.Ф., Бутенко А.К., Зак К.П. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства. - К.: Наук. думка, 1998. - 317 с.
5. Вечников А.И. Основные приемы статистической обработки результатов наблюдений в области физиологии. - М.: Медицина, 1974. - 150 с.
6. Коваль С.Б. Реакция лизосомального аппарата циркулирующих нейтрофильных лейкоцитов и

- изменение активности ангиотензин-конвертирующего фермента в сыворотке крови рожениц при физиологических и осложненных родах // Медико-социал. проблемы семьи. - 1999. - 4, № 1. - С.18-23.
7. Коваль С.Б., Лунина Н.В., Середенко М.М. Синдром дегрануляции нейтрофильных лейкоцитов // Буковин. мед. вісник. - 2000. - 4, № 1. - С.179-187.
 8. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. / Под ред. Меньшова В.В. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
 9. Луговая С.А. Структура и функции моноцитов // Клин. лаб. диагностика. - 1997. - № 9. - С.10-16.
 10. Лунина Н.В. Абакумова Л.В. Возрастные особенности реакции лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов периферической крови кроликов на действие иммобилизации // Физиол. журн. - 1991. - 37, № 2. - С.60-65.
 11. Лунина Н.В., Коваль С.Б. Влияние лизосомальных ферментов нейтрофильных лейкоцитов на синтез простагландинов // Вопр. мед. химии. - 1983. - 29, № 1. - С.23-26.
 12. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 1987. - 2. - С.446-447.
 13. Меерсон Ф.З. Постстрессорная активизация синтеза нуклеиновых кислот и белков и ее роль в адаптационных реакциях организма // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1982. - № 5. - С.3-14.
 14. Михеенко Т.В. Два метода получения обогащенной популяции моноцитов периферической крови // Лаб. дело. - 1987. - №10. - С. 763-766.
 15. Монцевичюте - Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1964. - № 4. - С.71-78.
 16. Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. - М.: Наука, 1978. - 127 с.
 17. Середенко М.М., Антонова І.І., Коваль С.Б. Стан лизосомального аппарата деяких тканей організму за умов гіпоксії, викликаної крововтратою // Физиол. журн. - 1992. - 38, №6. - С.20-25.
 18. Торубатова Н.А., Барышников А.Ю., Мамбетова А.Н. Антигенные детерминаторы мембран и функция моноцитов. // Гематология и трансфузиология. - 1988. - 33, №5. - С.34-38.
 19. Филев Л.В. Особенности функциональной активности моноцитов при остром вирусном гепатите // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 1985. - №8. - С.61-65.
 20. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. - М.: Медицина, 1984. - 272 с.
 21. Яворковский Л.И. Система мононуклеарных фагоцитов и ее злокачественные заболевания. - Рига: Зинатие, 1987. - 183 с.
 22. Apte R.N., Heller E., Hertogs C.F. et al. Macrophages as regulators of granulopoiesis // Macrophages and lymphocytes. - 1980. - Pt.A. - P.433-439.
 23. Baggolini M., Deward B. The neutrophil // Int. Archs Allergy appl. Immunol. - 1985. - 76, N1. - P.13-20.
 24. Ferreira S.H. Are macrophages the body's alarm cells? // Agents and Actions. - 1980. - 10, N3. - P.229-230.
 25. Gordon L.I., Douglas S.D., Kay N.E. et al. Modulation of neutrophil function by lysosome, a macrophage secretory product. - In.: International Conference on Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders, 7th. - Cardiff. - 1980. - P.76-83.
 26. Nathan C.F. Murray H.W., Cohn Z.A. The macrophage as an effector cell // New Engl.J. Med. - 1980. - 303, N11. - P.622-626.
 27. Ross D., Reiss M., Balm A.I.M. et al. A metabolic comparison between human blood monocytes and neutrophils // Macrophages and lymphocytes. - 1980. - Pt.A. - P.29-36.
 28. Whelan C.J. Is granulocyte or endothelial cell activator responsible for the initiation of granulocyte recruitment during acute inflammation (Review) // Agents & Actions. - 1992. - 37, N3-4. - P.319-324.

Луган. пед. ун-т ім. Т.Г.Шевченка М-ва освіти України;

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 11.01.2001