УДК 612.9

ЗАЛЕЖНІСТЬ ЦИТОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ МОНОЦИТІВ ВІД СТАНУ ЛІЗОСОМАЛЬНОГО АПАРАТУ НЕЙТРОФІЛІВ ПРИ РОЗВИТКУ СТРЕС – СИНДРОМУ

Степаненко В.В., аспірант

Луганський державний педагогічний університет

АКТУАЛЬНІСТЬ РОБОТИ

Раніше роботами нашої лабораторії було доведено, що при дії на організм різноманітних стрес – факторів розвивається нейтрофільний лейкоцитоз, який супроводжується дегрануляцією нейтрофільних лейкоцитів за рахунок виходу лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів у кровоток шляхом екзоцитозу [1].

Лізосомальні ферменти, які надійшли до кровотоку, активують Хагеман– залежні системи організму, а також впливають на імунний статус організму (активують систему лімфоцитів) й тим самим беруть участь у гуморальній регуляції функцій організму в умовах розвитку стрес – реакції [1].

У подальших дослідах була доведена можливість гуморального впливу лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів при розвитку стрес – синдрому на показники НСТ-тесту та фагоцитозу моноцитів [2].

Метою цього дослідження є подальше вивчення впливу лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів на показники функціонального стану систем моноцитів, а саме – систем дезінтоксикації та антибактеріального захисту клітини (відповідно системи неспецифічних естераз та пероксидази).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проведені на 95-и кролях обох статей, безпорідних, вагою 2,5-3 кг.

Тварини утримувались в умовах віварію при температурі 18-22° С та знаходились на звичайному раціоні харчування.

Як стресор використовували 12-годинну іммобілізацію в положенні на спині [3].

Тварини були поділені на дві групи: перша – контрольна – кролі підлягали тільки іммобілізації; друга – дослідна – іммобілізація відтворювалась на фоні пригнічення гранулоцитопоезу.

Пригнічення гранулоцитопоезу здійснювали цитостатичним, специфічним препаратом мієлосаном [4].

У тварин вивчались такі показники:

- абсолютна кількість лейкоцитів у периферичній крові (підраховували за загальноприйнятою методикою у камері Горяєва),
- абсолютна кількість нейтрофілів (розраховували, попередньо визначавши лейкоцитарну формулу в мазках крові, пофарбованих за Папенгеймом-Крюковим) [5],
- кількість лізосом у нейтрофілах (визначали методом світової мікроскопії, лізосоми нейтрофілів ідентифікували в мазках крові, пофарбованих барвником Май-Грюнвальда та Романовського) [6],
- абсолютна кількість дегранульованих нейтрофілів (дегранульованими нейтрофілами вважали клітини, які містять менш 30 лізосом) [6],
- ступінь дегрануляції нейтрофілів [7],
- індекс дегрануляції нейтрофілів [7],
- активність кислої фосфатази в сироватці крові (вивчали за методом Боданського) [8],
- індекс пероксидазної активності [9],
- індекс активності неспецифічних естераз [10].

Статистичне обрахування результатів проводилось методом прямих різниць, як описано у Є.В. Монцевічюте – Ерінгене [11]. Результати досліджень наведені у таблиці. У таблиці: Р – вірогідність різниць показників у порівнянні з вихідними даними, P_1 – вірогідність різниць показників між групами.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У першій групі 12-ти годинна іммобілізація кролів призводила до розвитку нейтрофільного лейкоцитозу з максимумом на 4-добу після стресової дії. На 14-у добу кількість нейтрофілів була такою ж, як і до іммобілізації. Розвиток нейтрофільного лейкоцитозу був обумовлений вибросом кісткомозкового резерву нейтрофільних лейкоцитів у перші 4-и доби та активацією процесів гранулоцитопоезу в подальші строки дослідження [1,3].

Розвиток постстресорного нейтрофільного лейкоцитозу у тварин супроводжувався зміною функціонального стану лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів. Після імобілізації спостерігалося зменшення кількості лізосом у нейтрофілах, про що свідчать показники ступеню дегрануляції, індексу дегрануляції та абсолютної кількості дегранульованих нейтрофілів у кровотоці. Найбільших значень дегрануляція сягала на 4-у добу постіммобілізаційного періоду.

Динамика активності маркерного ферменту лізосом кислої фосфатази у сироватці крові мала прямо пропорційну залежність від дегрануляції нейтрофілів.

Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень попередніх робіт нашої лабораторії [1,3].

Іммобілізаія також змінювала активність неспецифічних естераз та пероксидази в моноцитах.

У перші три доби післяіммобілізаційного періоду активність неспецифічних естераз була підвищеною у порівнянні з вихідними показниками, після чого спостерігалося падіння активності неспецифічних естераз нижче рівня доіммобілізаційних показників. Максимальні показники активності неспецифічних естераз були зареєстровані на 1-у добу після дії іммобілізації +1,07 ±0,024, мінімальні – на 4-у добу – – 0,32 ±0,033. На 14-у добу дослідження показники активності неспецифічних естераз відновлювалися.

Також після дії стресора підвищувалися показники пероксидазної активності з максимумом на 4 добу і дорівнювали +0,63 ±0,022. На 14-у добу експерименту показники не відрізнялися від вихідних значень.

Таким чином, іммобілізація призводила до виходу лізосомальних ферментів у кров та зміни показників цитохімічної активності моноцитів периферичної крові.

Для з'ясування можливості впливу лізосомальних ферментів нейтрофілів на показники цитохімічної активності моноцитів при розвитку стрес – реакції в дослідній групі іммобілізацію проводили на фоні пригнічення гранулоцитопоезу.

Введення мієлосану призводило до зменшення абсолютної кількості нейтрофілів у крові кроликів на 40 – 50 % [4]. Показники кількості нейтрофілів не відновлювалися до кінця експерименту.

У результаті цього кількість лізосомальних ферментів нейтрофілів у постіммобілізаційний період була нижче порівняно з контрольною групою, про що свідчать показники абсолютної кількості дегранульованих нейтрофілів, індексу дегрануляції та кількості кислої фосфатази в кровотоці.

Динаміка показників цитохімічної активності моноцитів у післяіммобілізаційний період також відрізнялась від контрольних показників. У другій групі не спостерігалося підвищення показників активності неспецифічних естераз у відповідь на дію стресора, як це було в контрольній групі, спостерігалася тільки фаза зниженої кількості неспецифічних естераз.

Підвищення пероксидазної активності в моноцитах після дії стресора у другій групі було менш вираженим і складало 62 % в порівнянні з контрольною групою. Відновлення показників відбувалося раніше в порівнянні з контрольною групою (у контролі відновлення показників відбувалося на 14 добу, у дослідній групі – на 10-у добу).

Таким чином, експериментальне зменшення кількості лізосомальних ферментів у кровотоці у другій групі, шляхом введення кролям мієлосану, обумовлювало менш виражену постіммобілізаційну активацію пероксидази та інгібувало підвищення активності неспецифічних естераз моноцитів на початку розвитку стрес – реакції, що свідчить про обмеження формування адаптаційних реакцій систем моноцитів: бактерицидної та системи дезінтоксикації.

На підставі отриманих даних можна зробити висновок про вплив лізосомальних ферментів нейтрофілів на функціональний стан моноцитів та важливості клітинних взаємозв'язків системи нейтрофіл/моноцит в умовах адаптації організму до чинників зовнішнього середовища.

Таблиця – Показники функціональної активності нейтрофілів та моноцитів (M ±m).

Показники	Група	Вихідний стан	Стан після введення мієлосану	Стан показників після іммобілізації.								
				1-а доба	2-а доба	3-я доба	4-а доба	6-а доба	8-а доба	10-а доба	12-а доба	14-а доба
Абсолютна кількість нейтрофілів $\times 10^9$/л	I	3,6 ±0,077	–	+1,9 ±0,027	+2,3 ±0,028	+2,6 ±0,033	+3,2 ±0,027	+2,7 ±0,036	+2,1 ±0,054	+2,0 ±0,054	+0,5 ±0,159	+0,1 ±0,060
	P	–	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.2
	II	3,6 ±0,073	1,5 ±0,071	+0,2 ±0,063	+0,4 ±0,084	+0,7 ±0,131	+1,0 ±0,113	+0,8 ±0,075	+0,6 ±0,072	+0,5 ±0,086	+0,5 ±0,071	+0,7 ±0,109
	P	–	<0.001	<0.02	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	P_1	>0.5	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.5	<0.001
Абсолютна кількість дегранульованих нейтрофілів $\times 10^9$/л	I	0,0 ±0,00	–	+1,1 ±0,04	+1,7 ±0,06	+3,1 ±0,07	+4,0 ±0,09	+3,1 ±0,06	+2,0 ±0,07	+1,3 ±0,05	+0,1 ±0,04	0 ±0,00
	P	–	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.1
	II	0,0 ±0,00	0,0 ±0,00	+0,3 ±0,08	+0,4 ±0,08	+1,1 ±0,1	+1,5 ±0,07	+1,2 ±0,07	+0,9 ±0,08	+0,5 ±0,08	+0,1 ±0,04	0 ±0,00
	P	–	>0.5	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.1
	P_1	>0.5	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.5	>0.5
Ступінь дегрануляції нейтрофілів	I	1,00 ±0,000	–	+0,28 ±0,013	+0,41 ±0,013	+0,66 ±0,014	+0,79 ±0,018	+0,65 ±0,009	+0,44 ±0,016	+0,32 ±0,011	+0,03 ±0,009	0 ±0,000
	P	–	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.5
	II	1,00 ±0,000	1,00 ±0,000	+0,29 ±0,018	+0,39 ±0,017	+0,63 ±0,025	+0,75 ±0,016	+0,61 ±0,022	+0,49 ±0,027	+0,31 ±0,017	+0,02 ±0,007	0 ±0,002
	P	–	>0.5	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.1
	P_1	>0.5	–	>0.5	>0.2	>0.2	>0.1	>0.05	>0.2	>0.2	>0.5	>0.1
Індекс дегрануляції нейтрофілів	I	0 ±0,000	–	+1,41 ±0,062	+2,41 ±0,099	+5,19 ±0,157	+7,25 ±0,217	+5,15 ±0,115	+2,84 ±0,122	+1,73 ±0,081	+0,11 ±0,039	0 ±0,000
	P	–	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.5
	II	0 ±0,000	0 ±0,000	+0,43 ±0,095	+0,76 ±0,137	+1,78 ±0,170	+2,61 ±0,127	+1,87 ±0,116	+1,28 ±0,122	+0,61 ±0,107	+0,13 ±0,045	0 ±0,002
	P	–	>0.5	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.1
	P_1	>0.5	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.5	>0.1

Продовження таблиці – Показники функціональної активності нейтрофілів та моноцитів (M ±m).

Показники	Група	Вихід-ний стан.	Стан після введен-ня мієло-сану	Стан показників після іммобілізації.								
				1-а доба	2-а доба	3-я доба	4-а доба	6-а доба	8-а доба	10-а доба	12-а доба	14-а доба
Активність кислої фосфатази ВЕ	I	0 ±0,000	–	+0,30 ±0,004	+0,31 ±0,008	+0,36 ±0,004	+0,41 ±0,007	+0,37 ±0,003	+0,27 ±0,004	+0,21 ±0,006	+0,16 ±0,011	0,02 ±0,010
	P	–	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.1
	II	0 ±0,000	0 ±0,000	+0,05 ±0,012	+0,08 ±0,015	+0,12 ±0,012	+0,16 ±0,012	+0,14 ±0,012	+0,12 ±0,010	+0,08 ±0,009	+0,05 ±0,011	+0,02 ±0,008
	P	–	>0.5	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.02	>0.1
	P_1	>0.5	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.5
Індекс активності неспецифіч-них естераз у моноцитах	I	1,769 ±0,031	–	+1,07 ±0,024	+0,91 ±0,048	+0,18 ±0,029	– 0,32 ±0,033	– 0,30 ±0,025	– 0,25 ±0,027	– 0,18 ±0,023	– 0,05 ±0,014	0,00 ±0,008
	P	–	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	>0.5
	II	1,76 ±0,031	1,75 ±0,027	– 0,08 ±0,013	– 0,17 ±0,020	– 0,30 ±0,032	– 0,41 ±0,025	– 0,33 ±0,037	– 0,26 ±0,038	– 0,17 ±0,028	– 0,05 ±0,026	+0,00 ±0,009
	P	–	>0.5	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.05	>0.5
	P_1	>0.5	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.005	>0.5	>0.5	>0.5	>0.5	>0.5
Індекс активності перокси-дази у моноцитах	I	0.88 ±0,017	0,87 ±0,013	+0,06 ±0,013	+0,17 ±0,015	+0,40 ±0,21	+0,42 ±0,023	+0,32 ±0,013	+0,22 ±0,025	+0,01 ±0,009	+0,01 ±0,010	+0,00 ±0,008
	P	–	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	>0.5
	II	0.88 ±0,017	0,87 ±0,013	+0,06 ±0,013	+0,17 ±0,015	+0,40 ±0,021	+0,42 ±0,023	+0,32 ±0,013	+0,22 ±0,025	+0,01 ±0,009	+0,01 ±0,010	+0,00 ±0,008
	P	–	>0.5	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	>0.2	>0.5
	P_1	>0.5	–	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.005	>0.2	<0.001	<0.05	>0.5

ЛІТЕРАТУРА

1. Коваль С.Б. Луніна Н.В. Середенко М.М. Синдром дегрануляції нейтрофільних лейкоцитів //Буковинський медичний вісник. – 1998. – Т.2, №4. – С.204 – 213.
2. Лунина Н.В. Степаненко В.В. Ушко Я.А. Лизосомальные ферменты нейтрофилов и функциональное состояние моноцитов при иммобилизационном стрессе //Вісник Луганського державного педагогічного університету імені Тараса Шевченка. – 2000. – №3. – С.157 – 161.
3. Лунина Н.В. Абакумова Л.В. Возрастные особенности реакции лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов периферической крови кроликов на действие иммобилизации //Физиологический журнал – 1991.– Т.37, №2.– С.60 – 65.
4. Боярчук Е.Д. Роль нейтрофильных лейкоцитов в развитии ДВС – синдрома //Вестник проблем биологии и медицины. – 1998.– №16.– С. 39 – 45.
5. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования /Под ред. Е.А. Коста – М.: Медицина. – 1968.– 436 с.
6. Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. – М.: Наука.– 1978.– 127с.
7. Венчиков А.И. Основные приемы статистической обработки результатов наблюдений в области физиологии. – М.: Медицина, 1974. – 152 с.
8. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. /Под ред. В.В. Меньшова – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
9. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования /Под ред. Е.А. Коста М.: Медицина. – 1972.– 452 с.
10. Лойд З. Гистохимия ферментов: Пер. с англ. – М.: Мир,1982. – 326с.
11. Монцевичюте – Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе //Патологическая физиология и экспериментальная терапия.– 1964.– №4. – С.71 – 78.