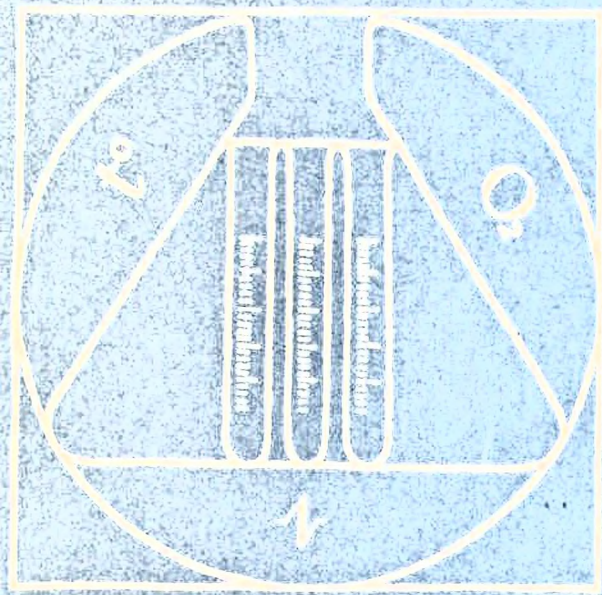


# ЛАБОРАТОРНОЕ ДЕЛО 7



Москва  
Медицина. 1986

---

ГЕМАТОЛОГИЯ

---

ЦИТОЛОГИЯ И КЛИНИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

---

КОАГУЛОЛОГИЯ

---

БИОХИМИЯ

---

ИММУНОЛОГИЯ

---

МИКРОБИОЛОГИЯ

---

---

---



D. H. — Membr. Biochem., 1980, vol. 3, p. 291—315.

58. Montecucco C., Rink T. J., Pozzan T. et al. — Biochim. biophys. Acta, 1980, vol. 595, p. 65—70.
59. Naceache P. H., Showell J. M., Becker E. L. et al. — J. Cell Biol., 1979, vol. 83, p. 179—186.
60. Nairn R. C., Rolland J. M. — Clin. exp. Immunol., 1980, vol. 39, p. 1—13.
61. Narayanan R., Balaram P. — J. scient. industr. Res., 1980, vol. 39, p. 441—452.
62. Pagano R. E., Ozato K., Ruysschaert J. M. — Biochim. biophys. Acta, 1977, vol. 465, p. 661—666.
63. Parola A. H., Kaplan J. H., Lockwood S. H. et al. — Ibid., 1981, vol. 649, p. 616—624.
64. Peel W. E., Thomson A. E. R. — Leukemia Res., 1980, vol. 4, p. 601—610.
65. Petitou M., Tuy F., Rosenfeld C. et al. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1978, vol. 75, p. 2306—2310.
66. Rajael J. — Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem., 1980, Bd 361, S. 437—444.
67. Rink T. J., Montecucco C., Hesketh T. R. et al. — Biochim. biophys. Acta, 1980, vol. 595, p. 15—30.
68. Schneider A. S., Herz R., Sonenberg M. — Biophys. J., 1978, vol. 21, p. 120a.
69. Schroeder F., Goh E. H., Heimberg M. — FEBS Lett., 1979, vol. 97, p. 233—236.
70. Shaklai N., Sharma V. S., Ranney H. M. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1981, vol. 78, p. 65—68.
71. Shapiro H. M., Natale P. J., Kamensky L. A. — Ibid., 1979, vol. 76, p. 5728—5730.
72. Shinitzky M., Inbar M. — J. molec. Biol., 1974, vol. 85, p. 603—615.
73. Shinitzky M., Inbar M. — Biochim. biophys. Acta, 1978, vol. 515, p. 367—394.
74. Sklar L. A., Doody M. C., Gotto A. M. et al. — Biochemistry, 1980, vol. 19, p. 1294—1301.
75. Stryer L. — Ann. Rev. Biochem., 1978, vol. 47, p. 819—846.
76. Stubbs C. D., Tsang W. M., Belin J. et al. — Biochem. Soc. Trans., 1978, vol. 6, p. 289—290.
77. Toyoshima S., Osawa T. — J. biol. Chem., 1975, vol. 250, p. 1655—1660.
78. Tsién R. Y., Pozzan T., Rink T. J. — Nature, 1982, vol. 295, p. 68—70.
79. Van Blitterswijk W. J., Emmelot P., Hilkmann H. A. M. et al. — Biochim. biophys. Acta, 1977, vol. 467, p. 309—320.
80. Van Blitterswijk W. J., Van Hoeven R. P., Van der Meer B. W. — Ibid., 1981, vol. 644, p. 323—332.
81. Vanderkooi J., Callis J. B. — Biochemistry, 1974, vol. 13, p. 4000—4006.
82. Vanderkooi J., Glatz P., Casadei J. et al. — Europ. J. Biochem., 1980, vol. 110, p. 189—196.
83. Van Hoeven R. P., Van Blitterswijk W. J., Emmelot P. — Biochim. biophys. Acta, 1979, vol. 551, p. 44—54.
84. Waggoner A. S. — Methods Enzymol., 1979, vol. 55, p. 689—695.
85. Yanovich S., Harris K., Sallan S. E. et al. — Cancer Res., 1978, vol. 38, p. 4654—4661.

Поступила 31.05.85

УДК 616.322-008.953-008.13:616.322-008.953-008.939.6

Ключевые слова: нейтрофилы миндалин, отпечатки, катионный белок, фагоцитарная активность, эдгоровые, Большие тонзиллитом

В. Д. Драгомирецкий, Ю. И. Бажора, Л. Г. Кириченко, Б. Н. Пясецкий

## КАТИОННЫЕ БЕЛКИ И ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ, МИГРИРОВАВШИХ НА ПОВЕРХНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ МИНДАЛИН

Одесский медицинский институт им. Н. И. Пирогова

Предполагается, что полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ), вышедшие на поверхность слизистой оболочки полости рта и глотки, вскоре разрушаются, выделяя в секрет слизистых желез различные бактерицидные вещества и медиаторы воспаления [4]. Однако, по данным некоторых авторов [5], в мазках-отпечатках, полученных с поверхности миндалин, обнаруживается большое число ПЯЛ, содержащих в цитоплазме поглощенные бактерии. Отмечено, что показатели фагоцитарной активности (ФА) этих клеток могут служить критериями в оценке течения хронического тонзиллита [3]. Следовательно, вышедшие на поверхность слизистой оболочки ПЯЛ определенное время сохраняют свои функции, в том числе и ФА. Исследованиями последних лет показано, что поглотительная способность ПЯЛ не может дать полного представления об их ФА, так как решающими этапами являются умерщвление и переваривание бактерий [7]. Одним из основных факторов, вызывающих гибель фагоцитированных микроорганизмов, являются лизосомные катионные белки (КБ) [8]. Исследования содержания КБ в ПЯЛ [1] дает важную информацию о функциональных возможностях этих клеток, что можно использовать для прогнозирования дальнейшего течения заболевания и оценки эффективности лечения [11]. Содержание КБ в ПЯЛ перитонеального экссудата в мазках-отпечатках с раневой поверхности коррелирует со степенью тяжести воспалительного процесса [11].

Цель настоящей работы — исследовать содержание КБ в ПЯЛ, мигриро-



вавших на поверхность миндалин, и корреляцию этого показателя с количеством убитых бактерий из числа поглощенных.

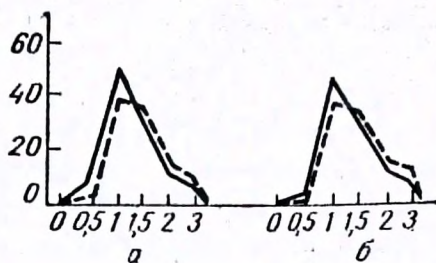
**Материал и методы.** Исследования проведены у взрослых людей в возрасте от 16 до 40 лет и у детей 5—11-летнего возраста. Взрослые люди (60 человек) были разделены на следующие группы: здоровые — 18 человек, больные острым тонзиллитом — 7, больные хроническим тонзиллитом — 30, больные острой респираторной вирусной инфекцией (ОРВИ) — 5, дети (29 человек) составили 3 группы: здоровые — 9, больные хроническим тонзиллитом — 9, с гипертрофированными миндалинами — 11 детей. Мазки-отпечатки готовили описанным ранее способом [2]. Содержание КБ определяли по методу В. Е. Пигаревского и Ю. А. Мазинга [10]. В группах здоровых и больных хроническим тонзиллитом взрослых людей для исключения асимметрии исследовали препараты, полученные с правой и левой миндалин. Содержание КБ оценивали, вычисляя средний цитохимический коэффициент (СЦК) по G. Astaldi и M. Verga [12], число активных клеток и гистограмму распределения клеток — по степени активности катионных гранул [6].

Методика окраски на КБ [10] позволила также определить ФА изучаемых клеток, поскольку фагоцитируемые живые и мертвые бактерии окрашиваются в разные цвета. Результаты исследования были обработаны методами вариационной статистики.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что нет существенных различий между содержанием КБ в клетках мазков-отпечатков с правой и левой миндалин. Так, у здоровых СЦК в мазках-отпечатках с правой миндалины составил  $1,34 \pm 0,078$ , с левой —  $1,47 \pm 0,072$  ( $p > 0,05$ ), у больных хроническим тонзиллитом — соответственно  $1,38 \pm 0,067$  и  $1,54 \pm 0,065$  ( $p > 0,05$ ).

Нет достоверных различий и между группами здоровых и больных людей ( $p > 0,05$ ). Однако гистограммы распределения клеток по степени активности правой и левой миндалин имеют характерную конфигурацию, которая сохраняется и при хроническом тонзиллите (см. рисунок).

Изучение ФА мигрировавших ПЯЛ, которую исследовали параллельно с



Гистограмма распределения ПЯЛ по содержанию КБ у здоровых и больных хроническим тонзиллитом.

а — левая, б — правая миндалина. Сплошная линия — здоровые, пунктирная — больные хроническим тонзиллитом. По оси ординат — содержание клеток (в %); по оси абсцисс — КБ в виде СЦК.

содержанием КБ в клетках, показало, что число активных фагоцитов у здоровых и больных довольно высокое. При хроническом тонзиллите не изменяется и фагоцитарный индекс, но количество живых бактерий несколько больше, хотя различия недостоверны. Асимметрия между правой и левой миндалинами также не выявлена.

Учитывая вышензложенное, в дальнейшем у всех обследуемых мазки-отпечатки получали только с правой миндалины. Не установлено у взрослых здоровых и больных острым и хроническим тонзиллитом, а также ОРВИ существенных различий КБ в ПЯЛ. У детей с хроническим тонзиллитом по сравнению со здоровыми КБ мигрировавших клеток достоверно повышен (см. таблицу).

Поскольку при воспалительных процессах в области ротоглотки интенсивность миграции ПЯЛ значительно возрастает, в мазках-отпечатках может увеличиваться содержание «свежих» клеток, которые еще не подверглись декатионизации. За счет таких клеток СЦК у больных увеличивается.

Выявлены несущественные различия в значениях ФА. Во всех группах взрослых больных имеется тенденция к снижению числа активных клеток по сравнению с таковым у здоровых. У здоровых детей этот показатель ниже, чем у взрослых, но при гипертрофии миндалин и при хроническом тонзиллите он несколько повышается. Фагоцитарный индекс в группах взрослых больных снижен, наиболее отчетливо при остром тонзиллите. Одновременно происходит уменьшение числа убитых клеток.

У детей фагоцитарный индекс несколько ниже, но бактерицидная способность их существенно возрастает



ФА и КБ ( $\bar{X} \pm m$ ) мигрировавших ПЯЛ

Группа обследованных	n	СЦК КБ	Фагоцитарное число	Фагоцитарный индекс	Число бактерий	
					убитых	живых
Взрослые люди:						
здоровые	18	1,34±0,078	85,56±2,90	5,86±0,95	4,32±0,86	1,16±0,18
больные острым тонзиллитом	7	1,45±0,055	80,0±4,62	3,5±0,4*	1,93±0,11*	1,49±0,36
больные хроническим тонзиллитом в стадии ремиссии	30	1,38±0,067	84,81±1,85	5,45±0,51	3,69±0,31	1,39±0,16
больные ОРВИ	5	1,29±0,1	81,0±7,0	4,48±0,26	3,41±0,19	1,07±0,45
Дети:						
здоровые	8	1,22±0,16	70,67±9,82	4,91±1,77	4,48±1,69	0,43±0,09**
больные хроническим тонзиллитом в стадии ремиссии	9	1,38±0,09*	83,25±4,24	3,98±0,53	2,61±0,34	1,37±0,28*
с гипертрофированными миндалинами	11	1,27±0,038	77,33±3,87	4,74±1,12	3,75±0,99	0,88±0,28

\* Различия достоверны по сравнению с показателями у здоровых.

\*\* Различия достоверны по сравнению с показателями у здоровых взрослых людей.

за счет снижения числа живых фагоцитированных бактерий ( $p < 0,05$ ). При хроническом тонзиллите у детей, так же как у взрослых, поглотительная и особенно бактерицидная функция ПЯЛ угнетена. При гипертрофии миндалин фагоцитарный индекс в целом не изменяется, но бактерицидные свойства клеток снижаются.

Довольно часто в исследуемых препаратах здоровых и больных людей наблюдали катионные гранулы, расположенные внеклеточно. Рядом со скоплениями этих гранул находились убитые бактерии. Очевидно, здесь имели место явление экзоцитоза КБ [9] и их бактерицидное действие во внеклеточной среде совместно с другими защитными факторами слизистой оболочки.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что мигрировавшие на поверхность слизистой оболочки миндалин ПЯЛ обладают выраженной способностью к захвату и умерщвлению бактерий, причем КБ играют важную роль в бактерицидной системе этих клеток, а также в формировании биохимического барьера слизистых оболочек.

Воспалительный процесс в миндалинах или в области рта и глотки приводит к некоторому повышению уровня КБ в ПЯЛ, мигрировавших на поверхность миндалин. Одновременно с этим снижается число активных фаго-

цитов во всех группах взрослых больных и повышается у детей. Фагоцитарный индекс во всех группах больных снижается за счет уменьшения числа убитых бактерий, поглощенных ПЯЛ. Угнетение таких показателей процесса фагоцитоза, как ФА, фагоцитарный индекс, бактерицидность, свидетельствует об ослаблении этого важного звена защитного барьера слизистой оболочки.

Для выяснения взаимосвязи бактерицидной способности ПЯЛ с содержанием в них КБ определяли коэффициент корреляции между СЦК и числом убитых бактерий, находящихся внутри клеток. Установлено, что во всех группах обследованных имеется корреляционная связь между этими показателями с высокой степенью достоверности в группе больных хроническим тонзиллитом ( $p < 0,05$ ).

Следует отметить, что лизосомно-катионный тест, предложенный В. Е. Пигаревским, позволяет оценить одновременно несколько показателей фагоцитарной функции мигрировавших на поверхность слизистых оболочек ПЯЛ и раскрыть новые стороны их участия в формировании местного иммунитета верхних дыхательных путей.

Использование этого теста в оценке функционального состояния ПЯЛ может дать важную информацию при обследовании больных с различными воспалительными заболеваниями,



групп людей, подвергающихся действию профессиональных факторов, что может найти применение при массовой диспансеризации населения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аладатов А. Г., Вишнякова А. П. — Лаб. дело, 1978, № 9, с. 525—528.
2. Бажора Ю. И., Драгомирецкий В. Д., Богданов К. Г. — В кн.: Регионарная науч.-практ. конф. оториноларингологов: (Иркутск, 14—15 декабря 1983 г.). Тезисы сообщений. М., 1983, с. 161—162.
3. Балак Н. П. Изменения микрофлоры лакуи, клеточного состава и реакции фагоцитоза на поверхности небных миндалин при некоторых методах консервативного лечения хронического тонзиллита у детей, больных ревматизмом. Автореф. дис. канд. мед. наук. Днепропетровск, 1958.
4. Барабаш Р. Д., Левицкий А. П. — Вопр. мед. химии, 1978, № 3, с. 291—310.
5. Заболотная Е. В., Усольцев А. Н., Воротынцева Н. В. — Педиатрия, 1969, № 12, с. 29—33.
6. Катосова Л. К. — Журн. микробиол., 1977, № 3, с. 102—107.
7. Пауков В. С., Кауфман О. Я. — Арх. пат., 1983, № 5, с. 3—13.
8. Пигаревский В. Е. — Там же, 1977, № 2, с. 84—93.
9. Пигаревский В. Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М., 1978.
10. Пигаревский В. Е., Мазинг Ю. А. — Лаб. дело, 1981, № 10, с. 579—582.
11. Пигаревский В. Е. — Арх. пат., 1983, № 11, с. 14—22.
12. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кроветворных органов / Под ред. З. А. Бутенко. Киев, 1974.

Поступила 23.04.85

CATION PROTEINS AND PHAGOCYtic ACTIVITY OF POLYMORPHONUCLEAR LEUCOCYTES MIGRATING TO THE SURFACE OF TONSILLAR MUCOSA. V. D. Dragomiretsky, Yu. I. Bazhora, L. G. Kirichenko, B. N. Pyasetsky

Cation protein content and phagocytic activity of granulocytes migrating to the surface of tonsillar mucosa were studied in normal adult subjects and patients with acute and chronic tonsillitis, acute respiratory viral infections, healthy children and children suffering from chronic tonsillitis and those with hypertrophic tonsils. These cells were found to be characterized by not only absorptive, but by the bactericidal activity as well. A correlation was detected between the cation protein content and the number of intracellularly killed bacteria.

УДК 616.155.33-008.931:577.152.311]-074

Ключевые слова: моноциты, холестеролэстераза, метод определения

Д. А. Шакалис, М. В. Гапонова

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ХОЛЕСТЕРОЛЭСТЕРАЗЫ В МОНОЦИТАХ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

НИИ терапии СО АН СССР, Новосибирск

В многочисленных работах [1, 2, 7, 8, 12] показана роль клеток системы мононуклеарных фагоцитов в развитии дислипидотемии (ДЛП). Действительно функциональное состояние форменных элементов крови в определенной мере отражает интенсивность тканевого метаболизма. Форменные элементы крови содержат ряд гидролаз эфиров карбоновых кислот, принимающих участие в транспорте и обмене липидов. Цель настоящей работы — модифицировать метод определения активности холестеролэстеразы (ХЭ) в тканях для выявления активности ХЭ в моноцитах крови.

*Материал и методы.* Обследован 71 мужчина в возрасте 20—50 лет. Обследованные прошли скрининг по выявлению сердечно-сосудистой патологии и были признаны здоровыми.

*Реактивы.* Меченый холестерол ( $1-^{14}C$ )олеат, удельная активность 56,7 мКи/мМ) фирма «Amersham» (Англия), верографин 60 %, фирма «Спофа» (Чехословакия). Очищенный нерадиоактивный холестерололеат, очищенный желточный лецитин, олеиновая кислота, динатриевая соль ЭДТА, 0,15 М натрия хлорид, 0,2 М ацетатный буфер, бензол, хлороформ, метанол.

Кровь для определения активности ХЭ брали утром через 12—14 ч после последнего приема пищи из локтевой вены в количестве 15 мл с добавлением ЭДТА (1 мг на 1 мл крови).

Моноциты выделены в градиенте плотности верографин — фиколл [3]. Отмытую трижды 0,02 % раствором ЭДТА суспензию клеток разрушали в тefлоновом гомогенизаторе в 0,5 мл 0,15 М натрия хлорида и сразу использовали для исследования. Гидролитическую активность ХЭ определяли модифицированным методом Р. Вегчер [4], что позволило разработать чувствительный метод количественной