

установлено, что оптимальной является концентрация 2 %, а минимальной концентрацией метиламина, которая может быть зарегистрирована по увеличению оптической плотности (A_{540}) с 0,12 до 0,18, является концентрация 0,025 %. Следовательно, бактерии *Methylobacillus* M75 могут быть использованы для спектрофотометрического определения даже следовых количеств этого субстрата.

Характер роста облигатных метилотрофных *Methylobacillus* M75 на средах с различными концентрациями метанола представлен на рис. 3. Максимальный рост клеток отмечался при содержании этого субстрата в среде 1—2 % (об/об), что согласуется с данными для других метилотрофных бактерий [17]. Минимальная концентрация метанола, при которой был зарегистрирован бактериальный рост, соответствовала 0,1 %, тогда как концентрация 5 % его полностью подавляла.

Таким образом, выделенный и идентифицированный нами новый штамм облигатных метилотрофных бактерий *Methylobacillus* M75 может быть использован в создании тест-системы для качественного определения в средах таких экологически опасных и токсичных одноуглеродных соединений, как метанол и метиламин.

1. Quayle Y. R. // *Journ. Biochem. Society Trans.* 1980. V.8. № 1. P.1.
2. Whindass Y. D., Worsley M. J., Pioli E. M. et al. // *Nature.* 1980. V. 287. P. 396.
3. Сассон А. Биотехнология: Свершения и надежды. М., 1987.
4. Пат. 4368271 США. 1983.
5. Nishio M., Tanaka R., Matsuno T. et al. // *Journ. Ferment. Technol.* 1977. V. 55. № 2. P.200.
6. Tani J., Yoon B. D., Yamada H. // *Agric. Biol. Chem.* 1985. V. 49. P.2385.
7. Tani J., Yamada H. // *Microbial growth on C₁-compounds.* 1984. P. 293.
8. Haber C., Allen Z., Ahaо S. et al. // *Science.* 1983. P. 1147.
9. Мосин О. В., Карнаухова Е. Н., Пшеничникова А. Б. и др. // *Биотехнология.* 1993. № 9. С. 16.
10. Jenkins O., Jones D. // *Journ. General Microbiol.* 1987. V. 133. P. 453.
11. Collins M. D. et al. // *Journ. General Microbiol.* 1977. V. 100. P. 221.
12. Гальченко В. Ф., Андреев Л. В., Троценко Ю. А. // *Таксономия и идентификация облигатных метилотрофных бактерий.* Пушино. 1986.
13. Urakami T., Komagata K. // *Journ. Syst. Bacteriol.* 1986. V. 36. № 4. P. 502.
14. Доронина Н. В., Троценко Ю. К. // *Микробиология.* 1991. Т. 60. Вып. 5. С. 908.
15. Говорухина Н. И., Клецова Л. В., Цыганков Ю. Д. и др. // *Микробиология.* 1987. Т. 56. Вып. 5. С. 849.
16. Логинова Н. В., Троценко Ю. А. // *Микробиология.* 1981. Т.50. Вып. 1. С. 21.
17. Максимова Н. П., Фомичев Ю. К. // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 1991. № 9. С. 6.

УДК 616.183.12—07 + 661.728

В. А. СТЕЛЬМАХ, Т. Л. ЮРКШТОВИЧ,
В. В. ШЕВЛЯКОВ, Н. В. ГОЛУБ

ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТНОЙ ТЕРАПИИ БИОРАСТВОРИМЫМИ ДЕРИВАТАМИ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ АУТОИММУНОАЛЛЕРГИЧЕСКОГО СТАТУСА

As a result of the sensitization of guinea-pigs by formaldehyde it was obtained the model of autoimmunoallergic status in which the activation of reactions of immediated and retarded type hypersensitivity, the fising of autoimmune factors content, a sharp reduction of immunocompetent blood cells pul and the phenomena of antimicrobial and non-specific immunity depression are to be observed.

Under these conditions a 10-day enteral administration of the sodium salt of monocarboxylcellulose can not render a protective action. At the same time the enterosorbent therapy with sodium salt of monocarboxylcellulose allows to normalize the immunodepressive status, to activate, the factors of antimicrobial, humoral and cellular links of immunity, to rise sharply the barrier protective functions of the body, as well as to reduce slightly the manifestations of sensitization.

Значительная ионообменная активность производных окисленной целлюлозы, их безвредность для организма и возможность перорального применения в виде высококоллоидных растворов [1, 2, 3] предполагают наличие у дериватов целлюлозы энтеросорбционных свойств (энтеросорбция — один из самых эффективных методов дезинтоксикационной терапии [4]). Не менее значимой выступает эфферентная терапия и при аллергическом статусе организма. Массообмен через кишечную стенку нейропептидов, простагландинов, серотонина, гистамина и циркулирующих иммунных комплексов резко повышается при аллергизации организма [5, 6], поэтому прямое и опосредованное терапевтическое действие энтеросорбентов приводит к коррекции обменных процессов и иммунного статуса [7].

Указанное и послужило обоснованием изучения возможности использования растворов натриевых солей монокарбоксилцеллюлозы (Na-МКЦ) и аминокарбоксилцеллюлозы (Na-АКЦ) для энтеросорбционной терапии и профилактики аллергических состояний.

Материал и методика

Коллоидные растворы (10 %) Na-МКЦ и Na-АКЦ получали по ранее описанной методике [2].

В качестве патофизиологической модели для изучения энтеросорбционных свойств дериватов целлюлозы выбрано состояние экспериментальных животных при их сенсibilизации формальдегидом. В этом случае возникают не только реакции гиперчувствительности немедленного и замедленного типа, но и аутоиммунные клеточные реакции, т. е. наблюдается формирование аутоиммуноаллергического состояния [9, 10].

Эксперименты выполнены на 29 морских свинок-альбиносах, массой 400—500 г, разделенных на четыре группы по 7—8 особей в каждой. Животным внутрикожно в латеральную поверхность уха вводили 0,85 %-й раствор NaCl в дозе 20 мкл (1-я группа — контроль) или формальдегид в стандартной дозе 200 мкг [10] (2, 3 и 4-я группы — сенсibilизация). В течение последующих 10 сут морские свинки первой и второй групп получали внутривентрикулярно воду из расчета 2,5 мл/кг, а в желудок морским свинкам третьей и четвертой групп ежедневно на протяжении 10 сут вводили растворы Na-МКЦ и Na-АКЦ в суточной дозе 250 мг/кг.

На 11-е сут опыта всем животным ставили провокационные пробы с аллергеном, а через 24 ч учитывали уровень аллергических кожных, клеточных, серологических реакций и оценивали напряженность факторов неспецифической резистентности, аутоиммунного, антимикробного и клеточного иммунитета следующими тестами: в реакциях специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ), специфической лейкоагглютинации (РСАЛ), дегрануляции тучных клеток (РДТК) и агломерации лейкоцитов (РАЛ); исследовали фагоцитарные реакции нейтрофилов, обсемененность аутомикрофлорой слизистых оболочек полости рта, а также подсчитывали количество аутобляшкообразующих клеток в крови (АБОК), плазмоцитарных клеток в селезенке (ПКС), розеткообразующих Т-лимфоцитов и ауто-Т-лимфоцитов (ауто-РОК-пре-Т-супрессоров) [5, 8, 9, 10, 11]. Полученные данные обработаны статистически [12].

Результаты и их обсуждение

Однократное внутрикожное введение морским свинкам формальдегида в дозе 200 мкг вызывает развитие в организме животных своеобразного патологического состояния, характеризуемого как аутоиммуноаллергический статус. На 11-е сут у животных наблюдается интенсивная кожная реакция (воспаление, отек) на провокационное воздействие аллергена (табл. 1). Выявлено также резкое угнетение факторов естественного иммунитета. Так, показатель фагоцитоза в контроле состав-

ляет $52,4 \pm 5,01$ усл. ед., а при формальдегидной сенсibilизации только $33,7 \pm 5,92$ усл. ед. ($p < 0,05$), индекс переваривания — $0,88 \pm 0,28$ и $0,11 \pm 0,04$ усл. ед. ($p < 0,02$), а индекс фагоцитоза — $1,55 \pm 0,12$ и $0,99 \pm 0,10$ усл. ед. ($p < 0,01$). Снижение активности фагоцитов под влиянием формальдегида сопровождается возрастанием аутоиммунного компонента (увеличение количества АВОК) и явлениями клеточного иммунодефицита (снижение количества Т-лимфоцитов и ауто-РОК-пре-Т-супрессоров) (табл. 2). Существенные функциональные сдвиги в популяции иммунокомпетентных клеток происходят на фоне резкой лейкопении, когда количество лейкоцитов в крови снижается почти на треть (контроль — $12,4 \pm 0,76$, опыт — $9,5 \pm 0,67 \cdot 10^9$ /л, $p < 0,01$) со значительными явлениями лимфоцитопении и эозинофилии (рис. 1). Иммунотоксическое действие формальдегида приводит к резкому снижению защитных свойств барьерных факторов — обсемененность слизистых оболочек полости рта сенсibilизированных морских свинок условно-патогенной микрофлорой (*E. coli*) возрастает более чем в десять раз (контроль — $0,42 \pm 0,32$, опыт — $5,00 \pm 1,87$ колоний /см², $p < 0,001$).

Т а б л и ц а 1

Результаты иммуноаллергологического тестирования морских свинок, сенсibilизированных формальдегидом и подвергнутых энтеросорбентной терапии Na-МКЦ и Na-АКЦ

| Статистические показатели | Группы животных | | | |
|---|-----------------|-----------|------------|------------|
| | Контроль | Ф | Ф + Na-МКЦ | Ф + Na-АКЦ |
| 1. Интенсивность кожных проб на 2 %-ый раствор формальдегида, баллы | | | | |
| Н | 1/7 | 5/7 | 4/7 | 6/8 |
| M±m | 0,14±0,15 | 0,71±0,2* | 0,71±0,31 | 0,87±0,24* |
| 2. Толщина отека уха свинок (ТОУС), 10 ⁻² мм | | | | |
| M±m | 0,14±0,15 | 2,0±0,91 | 1,0±0,58 | 1,25±0,60 |
| 3. Толщина отека уха свинок, баллы | | | | |
| Н | 0/7 | 2/7 | 1/7 | 2/8 |
| M±m | 0,0±0,0 | 0,3±0,20 | 0,14±0,15 | 0,25±0,17 |
| 4. Реакция специфического лизиса лейкоцитов, % | | | | |
| Н | 1/7 | 3/7 | 3/7 | 2/8 |
| M±m | 4,9±2,6 | 12,3±6,25 | 15,7±6,37 | 9,34±3,68 |
| 5. Реакция специфической агглютинации лейкоцитов, баллы | | | | |
| Н | 1/7 | 3/7 | 2/7 | 3/8 |
| M±m | 0,43±0,46 | 1,30±0,78 | 0,86±0,78 | 0,63±0,26 |
| 6. Реакция дегрануляции тучных клеток, % | | | | |
| Н | 0/7 | 0/7 | 0/7 | 0/8 |
| M±m | 1,43±0,66 | 1,86±1,19 | 2,86±1,21 | 1,37±0,53 |
| 7. Реакция агломерации лейкоцитов, % | | | | |
| M±m | 11,6±2,8 | 11,3±1,62 | 11,7±4,09 | 6,1±1,41 |

П р и м е ч а н и е: * — здесь и на последующей таблице — статистически достоверные изменения по сравнению с контролем ($p < 0,05$); Н — в числителе — количество морских свинок с положительной тест-реакцией; в знаменателе — всего животных в опыте. Здесь и на последующей таблице — группы животных: Ф — сенсibilизация формальдегидом, Ф + Na-МКЦ и Ф + Na-АКЦ — сенсibilизация формальдегидом и эфферентная терапия Na-МКЦ и Na-АКЦ.

Десятисуточная энтеросорбентная терапия коллоидным раствором Na-МКЦ практически не вносит положительных сдвигов в динамику формирования аутоиммуноаллергического статуса. Так, уровни аллергологических тестов (кожные пробы, ТОУС, РСАЛ, РДТК), а также РАЛ, АВОК и ПКС у животных 2-й и 3-й групп близки (табл. 1, 2). В то же время некоторые иммуноаллергологические показатели у получавших Na-МКЦ животных (РСЛЛ, фагоцитарная активность, содержание

пре-Т-супрессоров) имеют даже более выраженную негативную направленность (табл. 1, 2, рис. 2). К положительным эффектам Na-MKЦ следует отнести явления нормализации количественного и качественного состава лейкоцитов (см. рис. 1), а также пятикратное снижение уровня обсемененности *E. coli* слизистых оболочек.

Т а б л и ц а 2

Показатели клеточного иммунитета у морских свинок, сенсibilизированных формальдегидом и подвергнутых энтеросорбентной терапии Na-MKЦ и Na-AKЦ (M±m)

| Изучаемые показатели | Группы животных | | | |
|---|-----------------|------------|------------|------------|
| | Контроль | Ф | Ф + Na-MKЦ | Ф + Na-AKЦ |
| Количество аутобляшкообразующих клеток в крови, % | 1,44±0,11 | 5,3±1,50* | 5,0±1,13* | 2,22±0,59 |
| Количество плазмоцитарных клеток в селезенке, % | 5,94±0,93 | 5,64±0,86 | 4,37±0,62 | 4,19±0,74 |
| Относительное количество Т-лимфоцитов в периферической крови, % | 18,3±2,7 | 10,7±1,28* | 14,7±2,9 | 20,5±1,84 |
| Абсолютное содержание Т-лимфоцитов в периферической крови, 10 ⁹ /л | 1,70±0,30 | 0,65±0,11* | 0,82±0,16 | 1,54±0,14 |
| Относительное количество ауто-РОК-пре-Т-супрессоров, % | 8,3±0,73 | 7,7±1,57 | 7,5±1,59 | 11,1±1,23* |
| Абсолютное содержание ауто-РОК-пре-Т-супрессоров, 10 ⁹ /л | 0,74±0,05 | 0,47±0,10* | 0,43±0,10* | 0,85±0,10 |

В аналогичных условиях эксперимента у Na-AKЦ также не выявлено протекторных свойств в отношении феномена гиперчувствительности замедленного типа (манифестация кожных провокационных тестов у животных, получавших препарат и в контроле, практически одинакова).

В то же время уровень клеточных аллергологических реакций (РСЛЛ, РСАЛ, РДТК) у получавших Na-AKЦ морских свинок значительно снижен по сравнению с сенсibilизированными животными и приближается к контролю (см. табл. 1). Указанное свидетельствует о выработке у животных под влиянием эфферентной терапии Na-AKЦ устойчивой тенденции к снижению комплементзависимой цитотоксичности и к уменьшению образования аллергенных агглютининовых и реактивных антител.

В процессе эксперимента установлены иммунокорректирующие свойства Na-AKЦ. Так наблюдается явная нормализация количества АБОК в крови (см. табл. 2), регистрируется практически двухкратное уменьшение спонтанно агломерированных лейкоцитов (сенсibilизация — 11,3±1,62 %, лечение Na-AKЦ — 6,1±1,41 %, $p < 0,02$), т. е. происходит снижение в крови титров индуцированных формальдегидом антилейкоцитарных агглютининов как следствие уменьшения напряженности иммунотоксической модуляции. В крови получавших Na-AKЦ морских свинок наблюдается полное исчезновение лейкоцитопении и патологических сдвигов в лейкограмме (см. рис. 2). При этом абсолютное количество лимфоцитов в крови животных четвертой группы превышает аналогичный показатель контрольных. На этом фоне происходит полная нормализация относительного и абсолютного содержания в крови Т-лимфоцитов в резко возрастает доля ауто-РОК-пре-Т-супрессоров (см. табл. 2), что однозначно свидетельствует о коррекции амфолитом клеточного иммунитета у сенсibilизированных формальдегидом морских свинок.

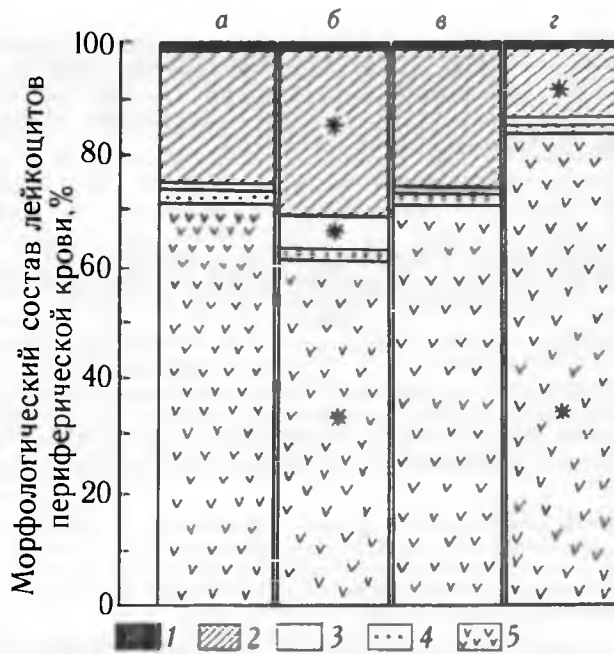


Рис. 1. Морфологический состав лейкоцитов периферической крови (%):

a — контрольных морских свинок, *б* — sensibilizированных формальдегидом, *в*, *г* — sensibilizированных формальдегидом и получавших Na-MKЦ и Na-AKЦ соответственно после 10-кратного курса эфферентной терапии; 1 — палочкоядерные и 2 — сегментоядерные нейтрофилы, 3 — эозинофилы, 4 — моноциты, 5 — лимфоциты; * — статистически достоверные различия с контролем

Существенная нормализация показателей клеточного и гуморального иммунитета в процессе эфферентной терапии Na-AKЦ формальдегидиндуцированного аутоиммуноаллергического статуса сопровождается активизацией факторов неспецифической резистентности организма. Наблюдается значительное уменьшение числа колоний *E. coli*, высеваемой со слизистых оболочек полости рта животных (до $0,13 \pm 0,13$ кол./см²; градиент достоверности по отношению к показателю второй группы $< 0,001$). Возрастает также фагоцитарная активность нейтрофилов (см. табл. 2). Это позволяет констатировать факт стимуляции антимикробного иммунитета.

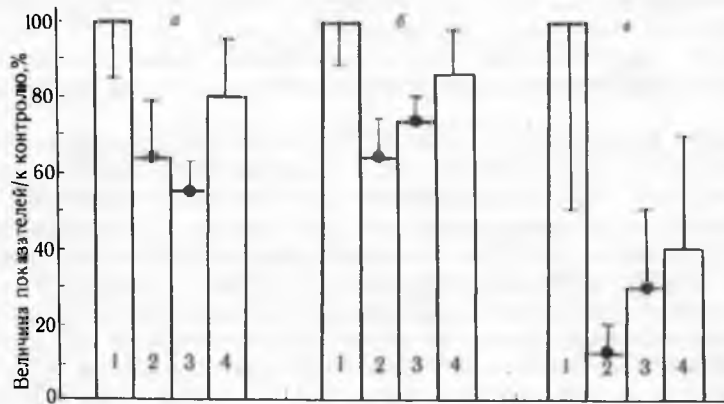


Рис. 2. Фагоцитарная реакция нейтрофилов крови (*a* — процент фагоцитоза, *б* — индекс фагоцитоза, *в* — индекс переваривания) контрольных морских свинок (1), sensibilizированных формальдегидом (2), sensibilizированных формальдегидом и получавших Na-MKЦ (3) и Na-AKЦ (4) после 10-кратного курса эфферентной терапии

Следовательно, сенсбилизация формальдегидом морских свинок приводит в течение 10 сут к формированию типичного аутоиммуноаллергического статуса. Проводимая в этот период энтеросорбционная терапия Na-МКЦ не вносит положительных сдвигов в развитие иммунопатологического состояния. В то же время регистрируется значительный защитный эффект коллоидного раствора Na-AKЦ: в процессе эфферентной терапии амфолитом достигается коррекция иммунодепрессивного компонента, наблюдается выраженная протекторная активность в отношении антимикробного, аутоиммунного и клеточного факторов иммунитета, а также незначительное ингибирование процессов алергизации. Таким образом, Na-AKЦ можно рекомендовать для дальнейшего изучения в качестве перспективного энтеросорбента при аутоиммунных, иммунодепрессивных и, возможно, алергических состояниях организма.

1. Капуцкий Ф. Н., Юркштович Т. Л. Лекарственные препараты на основе производных целлюлозы. Мн., 1989.
2. Капуцкий Ф. Н., Талапин В. И., Стельмах В. А. и др. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2. 1989. № 2. С. 49.
3. Стельмах В. А. // Тез. докл. V съезда фармакологов, фармацевтов и токсикологов БССР. Мн., 1989. С. 119.
4. Лужников Е. В., Костомарова Л. Т. Острые отравления: Руководство для врачей. М., 1989.
5. Клиническая иммунология и алергология / Пер. с нем.; Под ред. Л. Йегера. М., 1990.
6. Гальперин Ю. М., Лазарев П. И. Пищеварение и гомеостаз. М., 1986.
7. Энтеросорбция / Под ред. Н. А. Белякова. Л., 1991.
8. Алексеева О. Г. Иммунология профессиональных хронических бронхолегочных заболеваний. М., 1987.
9. Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Аллергия к промышленным химическим соединениям. М., 1978.
10. Методы исследования клеточного иммунитета: Метод. рекомендации. Рига, 1981.
11. Методы определения неспецифической резистентности организма: Метод. рекомендации. Л., 1976.
12. Митрофанов Н. Г. // Гигиена и санитария. 1986. № 5. С. 24.

УДК 581.1.001.

В. М. ЮРИН, А. И. СОКОЛИК

ВЛИЯНИЕ ЭНДО- И ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА СОПРЯЖЕНИЕ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ И ЦИКЛОЗА РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

The effect of the enviromental ionic composition and age of the plant cell on relations between of shifts resting potential and protoplasmic streaming are described.

Важная роль биоэлектрических потенциалов и движения протоплазмы в протекании ряда физиологических процессов в растениях в настоящее время общеизвестна [1,2,3 и др.]. Однако вопросы, касающиеся взаимосвязи и механизмов изменений этих процессов под влиянием различных факторов, требуют дальнейшего разрешения.

В этой связи в настоящей работе предпринята попытка установить некоторые зависимости сдвигов электрических характеристик и скорости циклоза от возраста клетки и варьирования ионного состава среды.

Материал и методика

Объектом исследования служили клетки харовой водоросли *Nitella supsaiga*, собранные в естественных условиях (канал Траку Воке, Литва).

В экспериментах использовались талломы, состоящие из пяти интернодальных клеток. Накануне опытов талломы препарировались и помещались в чашки Петри с искусственной прудовой водой (ИПВ) состава: 10^{-4} М KCl, 10^{-3} М NaCl и 10^{-4} М CaCl₂.

Во время опыта 3—4 отпрепарированных таллома с пятью последовательно расположенными клетками помещались в экспериментальную камеру с ИПВ, где измерялись потенциал покоя (ПП) и скорость движения протоплазмы.

Измерение ПП проводилось с помощью стандартной микроэлектрод-