

А. А. ШУТОВА

**ВЛИЯНИЕ СЫВОРОТОК, СОДЕРЖАЩИХ ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ
ТРЕФОНЫ, НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ**

(Представлено академиком А. А. Заварзиным 24 III 1945)

Изучение фагоцитоза показало зависимость его от двух факторов: активности самой клетки и влияния среды, в которой он протекает.

Фагоцитарная активность лейкоцитов крови рядом авторов связывается с возрастом и степенью зрелости клеток (14, 19). Отмечается также индивидуально различная фагоцитарная активность, передающаяся по наследству (13). Подробно изучено влияние среды, определяемое физико-химическими факторами (11, 12, 15, 17, 18).

Нас интересовало изучение фагоцитарной активности лейкоцитов в лошадиной сыворотке — нормальной и содержащей лейкоцитарные трефоны, так как, по исследованиям Карреля (7), лейкоциты, культивируемые в сыворотке, вырабатывают вещества, стимулирующие рост и активность других клеток.

Применение сывороток, содержащих лейкоцитарные трефоны (в дальнейшем, для краткости, мы будем называть их трефонированными), в практике заживления ран показало, что они повышают местную реактивность тканей и стимулируют процесс регенерации (3).

Мы полагали, что появление в сыворотке лейкоцитарных трефонов, вызванных жизнедеятельностью лейкоцитов, могло быть связано с изменением ее структуры и иммуно-биологических свойств. В целях выяснения этого вопроса и были поставлены нами исследования по изучению фагоцитарной активности лейкоцитов под влиянием лошадиной сыворотки, полученной после культивирования в ней в течение 48 и 72 часов лейкоцитов по методу, описанному в работе Хрущова (3), на материале которого и были проведены наши исследования.

В качестве контроля мы брали лошадиную сыворотку, простоявшую в термостате столько же времени, сколько и опытная. Обе сыворотки центрифугировались и были использованы как среда для сравнительных опытов по фагоцитозу.

Исследования проведены на 10 сериях сывороток, из которых 6 получены из 72-часовой и 4 из 48-часовой культуры. Опыты по фагоцитозу ставились по методу Райта (2) с суточной культурой стафилококка и с лейкоцитами человека, взятыми всегда от одного и того же лица. Опытная и контрольная сыворотки исследовались параллельно с одной и той же взвесью микробов, содержавшей в 1 см³ от 1 до 1,5 миллиарда микробов.

Мы наблюдали фагоцитоз в интервалы времени 5, 10 и 15 минут, кроме опыта № 5, поставленного на 10, 20 и 30 минут. Такая постановка дала нам возможность более детально наблюдать за картиной фагоцитоза и теми изменениями, которым подвергались лейкоциты при развитии этого процесса. Подсчеты фагоцитарных индексов, которыми мы обозначали среднее число микробов, захваченных одним лейкоцитом,

велись по двум-трем препаратам, в каждом из которых просчитывалось 100 лейкоцитов. Учитывались полинуклеары и моноциты. Результаты опытов сведены в табл. 1.

Таблица 1
Фагоцитарные индексы

№ опыта	Сыворотка	Продолжительность опытов фагоцитоза		
		5 мин.	10 мин.	15 мин.
1	Трефонированная	—	3,66	5,36
	Контрольная		2,08	12,73
3	Трефонированная	2,26	5,23	3,32
	Контрольная	2,05	2,68	6,15
4	Трефонированная	0,77	3,56	4,08
	Контрольная	1,03	2,59	3,24
6	Трефонированная	3,05	5,07	7,72
	Контрольная	1,38	1,83	2,24
7	Трефонированная	4,2	5,67	8,08
	Контрольная	1,7	4,1	3,5
8	Трефонированная	3,37	7,9	8,5
	Контрольная	2,36	5,97	5,13
9	Трефонированная	3,34	7,09	8,34
	Контрольная	1,86	3,98	10,03
10	Трефонированная	8,31	11,7	8,59
	Контрольная	5,75	14,14	11,28
11	Трефонированная	6,51	6,66	5,53
	Контрольная	3,72	5,09	9,63
		10 мин.	20 мин.	30 мин.
5	Трефонированная	2,75	3,56	8,82
	Контрольная	1,03	2,21	11,17

Из данных табл. 1 вытекает следующее. В 5-минутных опытах различие между фагоцитарными индексами, полученными в контрольной и трефонированной сыворотках, не везде выражено одинаково резко (опыты 3 и 4); через 10 минут это различие возрастает (особенно в опытах 3, 6, 9). В морфологической картине фагоцитоза, наблюдаемой в контрольной и трефонированной сыворотках, к этому времени наступает сильное различие. В трефонированной сыворотке переваривание микробов идет гораздо энергичнее: наряду с окрашенными микробами в лейкоцитах появляется много полупереваренных, слабо окрашенных форм, иногда встречаются совершенно обесцвеченные микробы, которые заметны на фоне протоплазмы только по слабому преломлению. В 15-минутных интервалах эти явления продолжают нарастать. Протоплазма лейкоцитов сильно изменена, вакуолизована и почти лишена зернистости. Фагоцитарный индекс в некоторых опытах (1, 3, 9, 10, 11) падает. В опыте 10 понижение индекса отмечается уже в 10-минутном интервале. Эти сыворотки мы рассматриваем как особенно активные. Под их влиянием большое количество микробов, захваченных лейкоцитами за 15 минут, успевает уже перевариться до такой степени, что их невозможно сосчитать, что и приводит к снижению фагоцитарного индекса. Эти явления заставляют нас думать, что темп переваривания микробов в трефонированной сыворотке сильно повышается.

Вызывается ли это стимулирующее действие выделением особых активаторов или изменением субстрата сыворотки при культивировании в нем лейкоцитов или обоими факторами в одно и то же время? Мы можем только отметить небольшие изменения белкового компонента в трефонированной сыворотке, которые были установлены в нашей лаборатории. Но уже незначительные изменения в химической структуре сыворотки могут вызвать сильные сдвиги в картине фагоцитоза.

Фагоцитирующие лейкоциты подвергаются большим изменениям.

Они сильно набухают и увеличиваются в размерах, становятся лабильными и легко деформируются. Наблюдается исчезновение зернистости и обильное образование вакуолей в протоплазме.

В процесс фагоцитоза вовлекаются все виды лейкоцитов. Наряду с нейтрофилами и моноцитами, описанными в классической литературе, мы наблюдали фагоцитирующих эозинофилов, которые не только захватывали, но и переваривали микробов, а также встречались фагоцитирующие базофилы и лимфоциты. Последние подвергались наиболее поразительным изменениям. В процессе фагоцитоза лимфоциты проходили быстрый цикл развития и эволюционировали до стадии макрофага. Мы наблюдали многочисленные переходные стадии развития лимфоцитов и превращения их в моноцитоидные формы, которые становились гигантскими макрофагами. Иногда эти клетки расположены поодиночке или попарно, иногда же мы наблюдали скопления по 5, 8, 10 и более клеток, расположенных тесно друг к другу. Феномен аглютинации наблюдался в некоторых опытах в отношении всех форм лейкоцитов.

В обычных лимфоцитах, разбросанных по всему препарату, встречались различные стадии развития. Мы их обозначили как переходные формы. Они характеризовались изменениями ядра как по окраске, так и по форме. Наиболее часто мы наблюдали следующую картину: ядро малого лимфоцита принимало неправильные очертания, становилось беднее хроматином и сильно увеличивалось в размере. Изменение ядерного аппарата сопровождалось разрастанием протоплазмы и клетка принимала размеры моноцита. Наряду с таким пролиферирующим типом встречались формы amitotического деления, в которых деление ядра не сопровождалось делением протоплазмы. Митозы не наблюдались никогда.

При подсчете лейкоцитарной формулы были учтены все лимфоциты, переходные и моноцитоидные формы и макрофаги и вычислено процентное соотношение лимфоцитов переходных и моноцитоидных форм и макрофагов по отношению к общей сумме агранулоцитов. Результаты этих подсчетов даны в табл. 2, где представлены изменения, которым подвергались лимфоциты в течение процесса фагоцитоза за 5, 10 и 15 минут. Представлены данные 8 опытов. Параллельно приведены результаты контрольных опытов, поставленных в тех же условиях, но без микробов, и давших в отношении развития макрофагов отрицательный результат.

Как видно из табл. 2, развитие макрофагов наблюдается не во всех опытах. Оно имеется в разной степени в опытах 3, 4, 5, 6, 7, 8 и отсутствует в опытах 9, 10. Оно не всегда идет параллельно в контрольной и трефонированной сыворотках. Увеличение макрофагов отсутствует в 5-минутных опытах, за исключением опыта 3, наиболее выражено в 10-минутных и не всегда сохраняется в 15-минутных. Последнее обстоятельство можно объяснить лабильностью клетки, вызванной ее физико-химическим состоянием, а также несовершенством техники мазка. Во время фагоцитоза набухшие лейкоциты легко подвергаются деформации и разрушению. На препаратах мы видели много больших, светло окрашенных ядер, иногда сохраняющих остатки голубой протоплазмы, которые мы можем отнести только к ядрам макрофагов.

Если сравнить увеличение макрофагов в контрольной и трефонированной сыворотках, то последняя в этом отношении не показывает преимущества. В ряде опытов развитие макрофагов в ней даже менее выражено. Эти результаты требуют проверки в дальнейших наблюдениях.

Сравнение результатов 5- и 10-минутных опытов и наблюдение картины фагоцитоза, появление многочисленных переходных форм ме-

жду лимфоцитами и моноцитами показывает, что мы имеем дело с закономерным процессом развития и превращения одной формы клетки в другую, вызванным таким могучим фактором, как фагоцитоз.

Описываемые нами изменения лимфоцитов наблюдались ранее в исследованиях с культурой ткани Каффье (6) и Максимовым (16), а также в опытах Блюм (5) и Конвей (9), которым удалось при введении в организм *Bacillus monocytogenes* вызвать гипермоноцитопоз и наблюдать превращение лимфоцитов в моноциты.

Интересно также сопоставить полученные нами результаты с исследованиями Каррель и Иблинг (8), установивших способность лимфоцитов и моноцитов жить и развиваться в сыворотке и показавших зависимость морфологической структуры клетки от ее метаболического состояния. Беккер (4) показала значение для развития моноцитов продуктов распада белка, полученного ферментативным путем. В свете этих исследований, а также новейших данных о роли нуклеиновых кислот в развитии и росте клеток (1, 10), учитывая также активную роль лейкоцитов в нуклеиновом обмене (20), мы можем думать, что изменения, наблюдаемые в лимфоцитах, могут быть вызваны продуктами распада бактериального антигена и изменениями в составе белков самой сыворотки, вызванными ферментативной деятельностью лейкоцитов.

Институт цитологии, гистологии
и эмбриологии Академии Наук СССР

Поступило
24 III 1945

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. Кедровский, Успехи совр. биол., **15**, в. 3 (1942). ² А. Райт, Основы вакцинотерапии, 1908. ³ Г. Хрущов, Роль лейкоцитов крови в восстановительных процессах в тканях, изд. АН СССР, 1945. ⁴ L. Baker, J. exp. Med., **57** (1933). ⁵ W. Bloom, Fol. Haem., **37** (1928). ⁶ P. Caffier, Arch. exp. Zellforsch., **4** (1927). ⁷ A. Carrel, J. Am. Med. Ass., **82**, 4 (1924). ⁸ A. Carrel and Ebeling, J. exp. Med., **38**, 5 (1923). ⁹ E. Conway, Arch. Path., **25** (1938). ¹⁰ A. Fischer, Nature, **144** (1939). ¹¹ Н. Hamburger u. J. Haan, Bioch. Z., **24** (1910). ¹² Н. Hamburger u. E. Hekma, Bioch. Z., **7** (1907). ¹³ L. Hektoen, J. Am. Med. Ass., **57** (1911). ¹⁴ A. Hertzog, Am. J. Path., **14** (1938). ¹⁵ R. Höber u. J. Kanai, Kl. Woch., No. 5, 209 (1923). ¹⁶ A. Maximow, Arch. exp. Zellforsch., **5** (1928). ¹⁷ J. Ouweleen, Pflüg. Arch. Ges. Phys., **164** (1916). ¹⁸ E. Philipsborn, Kl. Woch., No. 9, Jahr. 5 (1926). ¹⁹ M. Strumia and E. Boerner, Am. J. Path., **13** (1937). ²⁰ M. Tschenoruzki, Bioch. Zeit., **44** (1912).