

А. А. ШУТОВА

ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ СЫВОРОТОК,
СОДЕРЖАЩИХ «ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ТРЕФОНЫ»

(Представлено академиком Л. А. Орбели 2 IX 1947)

Настоящая работа посвящена изучению биохимических свойств сывороток, содержащих «лейкоцитарные треоны», и попытке объяснить с этой точки зрения их стимулирующее действие в процессах фагоцитоза (4), в явлениях роста и регенерации тканей (3). Мы остановились на изучении липоидно-жировых показателей сыворотки, так как липоиды играют большую роль в жизни клетки (5) и нам казалось, что культивирование лейкоцитов в сыворотке должно отразиться на ее биохимических показателях.



Рис. 1. Изменения жирных кислот, холестерина и лецитина в сыворотках при культивировании в них лейкоцитов

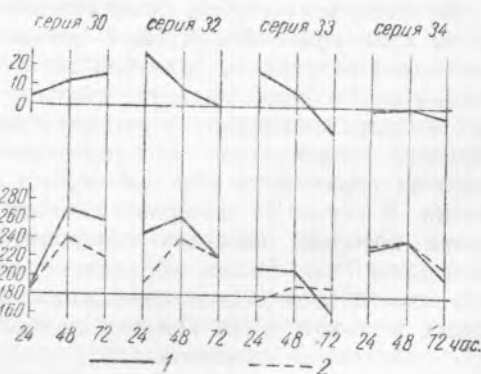


Рис. 2. Изменения жирных кислот в сыворотках при культивировании в них лейкоцитов. 1 — опытные, 2 — контрольные

В сыворотках лошадиной крови после культивирования в них гомологических лейкоцитов определялись: лецитин (23), холестерин и свободные жирные кислоты (7) и фермент липаза (19). Определение липоидов проведено на материале 11 серий; опыты поставлены с сыворотками 48- и 72-часовой культуры. Определения свободных жирных кислот поставлены на 10 сериях; часть опытов проведена также на сыворотках 24-часового «возраста».

Указанные выше сроки для постановки анализов были выбраны в связи с теми изменениями в морфологическом составе культуры лейкоцитов, которые описаны в ряде работ (2, 10, 15).

Результаты наших опытов представлены на рис. 1 и 2. На рис. 1 даны результаты 48- и 72-часовых опытов. Вертикальные столбцы дают величину изменений липоидов и жирных кислот, которая выражена как разность между опытными и контрольными сыворотками и вычислена в процентах. Положительные изменения отложены вверх, отрицательные — вниз от горизонтали. Под столбцами указаны номера опытов. Сопоставление данных 48- и 72-часовых опытов позволяет отметить различия в высоте уровней холестерина и лецитина в опытных сыворотках 48- и 72-часового возраста. Эти различия для холестерина имеют ясно выраженный характер. В 48-часовых опытах преобладает нарастание холестерина, в 72-часовых — уменьшение холестерина. Изменения лецитина гораздо меньше выражены и, казалось бы, лежат в пределах ошибки опыта. Но то обстоятельство, что в 48-часовых опытах изменения направлены в положительную сторону, а в 72-часовых лецитин сохраняет свой уровень или уменьшается, позволяет думать, что направление этих изменений имеет не случайный характер. Изменения свободных жирных кислот идут в одном направлении с изменениями липоидов и характеризуются большим их нарастанием в 48-часовых опытах.

Более наглядное представление о ходе изменений в содержании жирных кислот на разных стадиях опыта дает рис. 2, где представлены результаты исследований четырех серий. Анализ кривых показывает изменение уровня жирных кислот во время опыта, максимальное их нарастание к 48 час. и падение к 72. Верхние кривые представляют разность между изменениями жирных кислот в опытных и контрольных сыворотках, выраженную в процентах. Эти кривые показывают, что уровень жирных кислот в сыворотке, где живут лейкоциты, уменьшается, и к 72 час. становится даже ниже, чем в контроле, что указывает на активное потребление жирных кислот клетками.

Во всех этих сериях проведен цитологический анализ осадка, взятого из культуры лейкоцитов, с данными которого можно связать отклоняющиеся результаты, полученные в сериях 30 и 24. Серии 32 и 33 на вторые сутки дали обычную картину морфологического состава лейкоцитов, выражающуюся в подавляющем преобладании агранулоцитов и развитии макрофагов. Исследование морфологического состава лейкоцитов серии 30 в этот же период времени показало картину нейтрофилии. В серии 34 материал взят от лошади, лейкоцитарная формула крови которой показала лимфоцитоз (лимфоциты составляли 51%, моноциты 7%). Таким образом, с самого начала опыта в лейкоцитарной взвеси этой серии преобладали агранулоциты, с присутствием которых и может быть связано наиболее энергичное расщепление жировых субстанций сыворотки.

Сопоставление результатов в определении липоидов и свободных жирных кислот дает в общем картину одинаково идущих изменений. Липоидные и жировые компоненты в обмене очень тесно связаны (11, 20).

Анализ фермента липазы, проведенные на 17 сериях сывороток разного возраста, показали в опытных сыворотках большую липолитическую активность, чем в контрольных. Табл. 1 показывает результаты определений липолитической активности в опытных и контрольных сыворотках, полученных на нескольких сериях 24-, 48- и 72-часового возраста. Активность фермента в 24-часовых сыворотках одинакова в опытной и контрольной, но в 48- и 72-часовых сыворотках липолитическая активность ясно повышена.

Полученные нами результаты, позволяющие видеть, что особенно

резкие сдвиги в липоидно-жировых показателях сыворотки наступают в промежутки времени, когда в культуре преобладают лимфоциты, моноциты и развивающиеся из них макрофаги, ставят перед нами вопрос: можно ли предполагать специфические различия в обмене между различными типами белых клеток крови, которые до настоящего времени изучались в своей совокупности?

Л и п а з а

Т а б л и ц а 1

	Интервалы между исследованиями в минутах						
	10	20	30	40	50	60	
а) Средние данные из 4 серий 24-часовых сывороток							
Число капель	56,5	55,7	54,5	53,4	52,2	50,9	Опытные
% трибутирина	95	87	77	67	57	47	
Число капель	56,5	55,6	54,5	53,5	52,3	51,1	Контр.
% трибутирина	95	87	77	68	57	48	
б) Средние данные из 5 серий 48-часовых сывороток							
Число капель	56,2	55,1	54	52,9	51,9	50,8	Опытные
% трибутирина	92	83	73	62	54	46	
Число капель	56,3	55,3	54,2	53,3	52,1	51,2	Контр.
% трибутирина	93	84	75	66	56	49	
в) Средние данные из 8 серий 72-часовых сывороток							
Число капель	56,1	55,2	54,1	53,1	51,9	51	Опытные
% трибутирина	91	83	74	64	54	47	
Число капель	56,4	55,4	54,3	53,4	52,4	51,4	Контр.
% трибутирина	94	85	75	67	58	50	

Вопрос о биологической специфичности клеток, затронутый в работах Карреля (9), был поставлен также в исследованиях Хрущова (3), изучавшего роль лейкоцитов в процессах регенерации и заживления тканей. Весьма вероятно, что различие в физиологических функциях лейкоцитов, отмечаемое этими авторами, связано с различием в физиологии обмена. Это подтверждается и исследованиями Баррон и Харроп (6). Далее Максимов (16) и Вальбах (22) отмечают активную роль макрофагов в жировом обмене ткани.

Таким образом, литературные данные позволяют нам связать полученные нами результаты в определении биохимических показателей сыворотки с теми изменениями, которые претерпевают лейкоциты при длительном их культивировании. Высокий аэробный метаболизм лимфоцитов, отмечаемый Баррон и Харроп, очень хорошо согласуется с той активной ролью, которая приписывается лимфоцитам во многих биологических реакциях (1, 13, 17).

На основании изложенного нам кажется вероятным, что сдвиги в уровне жирных кислот, наблюдаемые в опытных сыворотках в указанные выше интервалы, связаны с жизнедеятельностью этих клеток. Действуя своими ферментами, они используют жировое содержание сыворотки, разлагая жиры с освобождением свободных жирных кислот, и используют их далее в метаболических процессах как энергетический материал.

Возвращаясь к вопросу о стимулирующем действии сывороток, содержащих «лейкоцитарные треоны», следует напомнить, в каком состоянии находятся белки и липоиды в нативной сыворотке.

Согласно исследованиям Машбеф (14), изучавшего состояние липоидов в живой материи, липоидно-жировые субстанции как в цитоплазме, так и в кровяной плазме находятся в тесной связи с белками, образуя липо-протеидные комплексы, что налагает отпечаток на свойства тех и других. Липоиды, не растворимые в воде, представляют гомогенный раствор в цитоплазме или кровяной плазме и являются маскированными к обычным химическим реактивам. Эта тесная связь липоидов с белками влияет также на основные свойства белков, делая их недоступными воздействию протеолитических ферментов.

Согласно нашим представлениям, возникновение трефонов связано с проявлением ферментативной активности лейкоцитов. Проведенные параллельно нашим опытам исследования Раменской (не опубликовано) показали повышение протеолитической активности сывороток, полученных после культивирования в них лейкоцитов. Трудность обнаружения протеолитических ферментов в нативной сыворотке заставляет предположить, что они могут быть адсорбированы коллоидами сыворотки. Мюллер и Йохманн (18) показали, что нативная сыворотка задерживает протеолитическое действие лейкоцитарных ферментов. Шварц (21), Джеблинг и Петерсен (12), Бекер и Каррель (8) полагали, что носителями антипротеолитического действия сыворотки являются липоиды в форме адсорбционно-связанных липоидно-белковых соединений.

Накопление свободных жирных кислот связано с расщеплением липоидно-жировых субстанций и предполагает их выход из белково-липидных связей, что создает условия, благоприятные для проявления протеолитической активности сыворотки. Наблюдаемые нами изменения в липоидно-жировых соединениях опытных сывороток действительно идут параллельно с ростом их протеолитической активности. Это и позволило нам предположить, что изменения в липоидно-жировых субстанциях, связанные с изменением биохимического субстрата сыворотки в целом, снижают ее ингибиторные свойства в отношении энзимных реакций. В условиях свободного проявления ферментативной активности лейкоцитов и могут быть построены вещества, обладающие питательными и стимулирующими рост и регенерацию тканей свойствами.

Полученные результаты показывают, что культивирование лейкоцитов в сыворотке отражается на ее биохимических показателях. Наблюдаются повышение липолитической активности и изменение в липоидно-жировых субстанциях сыворотки. Изменения в иммунно-биологических свойствах сывороток, содержащих «лейкоцитарные трефоны», идут параллельно с изменениями их биохимических свойств.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
2 IX 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Алексеев, Кл. мед., 3, № 12 (1925). ² Г. Хрущов, Булл. эксп. биол. и мед., 12, 18, в. 6 (1944). ³ Г. Хрущов, Роль лейкоцитов в восстановительных процессах в тканях, изд. АН СССР, 1945. ⁴ А. Шутова, ДАН, 48, № 8 (1945). ⁵ J. Bang, Ergeb. Physiol., 8 Jahr., 463 (1909). ⁶ E. Barron and G. Harrop, J. biol. Chem., 84, 89 (1929). ⁷ W. Bloor and others, *ibid.*, 52, 201 (1922). ⁸ L. Baker and A. Carrel, C. R. Soc. Biol., 93, 79 (1925). ⁹ A. Carrel, J. Am. Med. Assoc., 82, No. 4 (1924). ¹⁰ A. Carrel and A. Ebeling, J. Exp. Med., 36, No. 4 (1922). ¹¹ W. Hueck u. L. Waker, Bioch. Z., 100, 84 (1919). ¹² I. Jobling u. W. Petersen, Z. Immfor., 23, 71 (1915). ¹³ E. Kass, Science, 101, No. 2622 (1945). ¹⁴ M. Macheboeuf, Etat des lipides dans la matière vivante, 1936. ¹⁵ A. Maximow, Arch. exp. Zellfor., 5, 169 (1928). ¹⁶ A. Maximow, Arch. Entw.-Mech., 35, 135 (1912). ¹⁷ D. Moor and Newport, J. Lab. and Clin. Med., 24, 471 (1938/39). ¹⁸ E. Müller u. G. Jochmann, Münch. med. Woch., No. 31, 1507 (1906). ¹⁹ P. Rona u. L. Michaelis, Bioch. Z., 31, 345 (1911). ²⁰ R. Sinclair, J. biol. Chem., 82, 117 (1929). ²¹ O. Schwarz, Wien. Kl. Woch., No. 33, 1151 (1909). ²² G. Walbach, Arch. exp. Zellfor., 21, 436 (1938). ²³ J. Whitehorne, J. biol. Chem., 62, 133 (1924).