

Յ. Ժ. ՏԵՄԱՆՅԱՆ

ОДНОВРЕМЕННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕЙ СОСУДИСТОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ И ПОГЛОТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ РЕТИКУЛО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

В современной биологии проблема взаимоотношения между общей сосудистой проницаемостью и поглотительной способностью р.-э. системы представляется крайне запутанной и противоречивой. Такое состояние, вероятно, объясняется тем, что исследования указанных процессов осуществлялись в различных условиях, разнообразными методами, на отдельных животных и неодновременно.

Учитывая изложенное, нами была разработана специальная методика, позволяющая одновременно исследовать функциональное состояние общей сосудистой проницаемости и поглотительной способности р.-э. системы. В основу ее легла общепринятая конгорот-проба по Адлеру и Рейману в нашей ранней модификации [2] и методика исследования общей сосудистой проницаемости, предложенная П. А. Ойвином, В. И. Ойвином и Г. Н. Юшиной [1].

Согласно этим методам исследования, захватывающая способность р.-э. системы определяется с помощью красителя конгорота, а общая сосудистая проницаемость — синим Эвансом. Поэтому и сущность нашей методики заключается в том, что растворы конгорота и синего Эванса предварительно смешиваются друг с другом в определенных соотношениях. Смесь красителей инъецируется внутривенно животному и в одной и той же сыворотке крови, полученной через различные интервалы времени после инъекции, колориметрическим путем определяется относительное содержание каждого красителя в отдельности. По скорости уменьшения концентрации того или иного красителя в сыворотке крови за единицу времени представляется возможность судить о функциональном состоянии общей сосудистой проницаемости и фагоцитарной способности р.-э. системы.

Поскольку наша методика основывалась на применении смеси двух красителей с различной окраской и дисперсностью, то прежде чем приступить к исследованиям *in vivo* необходимо было провести некоторые исследования *in vitro*. В последних опытах следовало выяснить, насколько возможно колориметрическим путем определить в смеси двух красителей заведомо известную концентрацию каждого из них в отдельности.

Результаты многообразных исследований *in vitro* позволили выработать специальную схему дифференцированного колориметрирования, по которой легко и точно удавалось определять в смеси двух красителей концентрацию каждого из них в отдельности. Кроме того, выяснилось,

что сыворотка крови оказывает защитное действие в отношении красителя синего Эванса. Это действие сыворотки выражалось в том, что при добавлении раствора соляной кислоты интенсивность окраски синего Эванса, находящегося в одном физиологическом растворе, резко падала и, наоборот, его интенсивность практически не изменялась при наличии сыворотки крови в испытуемом растворе. Как видно, белки сыворотки крови предохраняли синий Эванс от обесцвечивающего воздействия на него раствора соляной кислоты. Как в прежних [2], так и в настоящих исследованиях не отмечалось выпадение белков сыворотки крови при добавлении к изучаемым растворам определенного количества соляной кислоты.

Приступая к исследованиям *in vivo*, необходимо было найти оптимальные количественные соотношения конгорота и синего Эванса для внутривенного применения их как в смеси, так и отдельно, а также следовало выяснить, влияют ли оба красителя друг на друга при раздельном и особенно при совместном их введении в организм. В поисках наилучших количественных соотношений обоих красителей требовалось, во-первых, инъецировать животным как можно меньшее количество красителей и, во-вторых, получить от них минимальное количество окрашенной сыворотки, удобное для колориметрирования.

Испытание различных доз красителей показало, что этим требованиям больше всего отвечают 1% раствор конгорота и 0,5% раствор синего Эванса в дозах по 0,4 мл/кг при раздельном и 0,8 мл/кг при совместном их применении.

Взаимодействие двух красителей между собой при раздельном и особенно при совместном их введении в организм изучалось в опытах на пяти кроликах. Подопытным животным в вену уха растворы конгорота и синего Эванса в вышеуказанных дозах как раздельно, так и в смеси. Причем красители, применяемые раздельно, чередовались друг с другом с четырехдневными интервалами. С такими же промежутками дважды инъецировались растворы красителей в смеси (табл. 1).

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что во всех отрезках времени процент снижения концентрации конгорота и синего Эванса в сыворотке крови варьирует в пределах исходных показателей независимо от того, применяются ли красители отдельно или же вместе.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применяемые и отдельно красители не оказывают отрицательное последствие как в отношении самого себя, так и другого. Более того, эти же результаты указывают, что инъекция обоих красителей в смеси не вызывает в организме явления, характерные для антагонистического их взаимодействия. Складывается впечатление, что удаление из кровяного русла двух неоднородных красителей производится различными функциональными механизмами и структурными образованиями. Разумеется, что для окончательного решения затронутого вопроса необходимо провести в комплексе функциональные и морфологические исследования.

На основании же наших исследований можно считать, что общая сосудистая проницаемость и фагоцитарная способность р.-э. системы в нормальном организме функционируют параллельно и независимо друг от друга.

Значение интервалов времени между многократными применениями красителей изучалось в четырех последующих сериях. А именно: в опытах 1-ой серии смесь равных объемов 1% раствора конгорота и 0,5% раствора синего Эванса в дозе 0,8 мл/кг инъецировалась ежедневно внутривенно в течение 5 дней, а в опытах 2-ой серии та же смесь красителей при прочих равных условиях впрыскивалась с четырехдневными интервалами (табл. 2).

Таблица 1
Состояние общей сосудистой проницаемости и фагоцитарной способности р.-э. системы при раздельном и совместном применении растворов конгорота и синего Эванса

Д а т а	Инъекция красителя	Процентное снижение концентрации красителя в сыворотке крови			
		в м и н у т а х			
		30	60	90	120
30—X.1962 г.	Конгорота	49±2,54	78±4,9	—	—
3—XI.1962 г.	Эванса синего	14±1,35	25±4,1	37±2,0	41±2,54
7—XI.1962 г.	Конгорота	44±3,16	79±1,48	—	—
11—XI.1962 г.	Эванса синего	11±1,0	22±1,27	35±1,42	38±2,46
15—XI.1962 г.	Конгорота с Эвансом синим	50±1,10	81±2,54	—	—
	Эвансом синим	11±2,33	24±2,11	33±1,55	37±1,86
19—XI.1962 г.	Конгорота с Эвансом синим	47±1,18	81±3,49	—	—
	Эвансом синим	12±1,85	20±1,61	36±1,90	40±1,49

Из данных, отраженных в табл. 2, явствует, что при ежедневном внутривенном применении смеси красителей общая сосудистая проницаемость, начиная со второго введения, прогрессивно снижается и на пятой инъекции она доходит до своего максимума. В этих условиях поглотительная способность р.-э. системы колеблется в рамках нормы. Такая качественно противоположная реакция двух исследуемых процессов вновь подтвердила то высказанное мнение, что общая сосудистая проницаемость и фагоцитарная способность р.-э. системы функционируют в организме внешне независимо друг от друга.

В опытах 2-ой серии внутривенное применение смеси красителей с четырехдневными промежутками (табл. 2) не вызывало какие-либо существенные изменения ни в общей сосудистой проницаемости, ни в поглотительной способности р.-э. системы. Из этих, а также из ранее проведенных нами опытов [2] можно было предположить, что угнетение сосудистой проницаемости, наблюдаемое в опытах 1-ой серии, обуславливается не столько применением конгорота, сколько синего Эванса.

Для проверки сделанного предположения в завершающих опытах кроликам пятикратно инъецировали внутривенно 0,5% раствор синего Эванса в дозе 0,4 мл/кг. Причем, в опытах 3-ей серии краситель инъецировали ежедневно, а в опытах 4-ой—с четырехдневными промежутками.

Из табл. 2 следует, что при каждодневном применении синего Эванса в течение пяти дней сосудистая проницаемость заметно подавляется после третьего введения красителя, что не отмечается при многократном впрыскивании его с четырехдневными интервалами. Экспериментальные данные подкрепили наше предположение о том, что при ежедневном применении смеси красителей угнетение сосудистой проницаемости вызывается красителем синим Эвансом, а не конгоротом.

Таблица 2

Изменения общей сосудистой проницаемости и поглотительной способности р.-э. системы при многократном применении растворов конгорота и синего Эванса

Серия	Условия опытов	Количество кроликов	Число инъекций	Процентное снижение концентрации				
				синего Эванса			конгорота	
				в минутах				
			30	60	90	30	60	
1	Пятикратное непрерывное применение и смеси конгорота и синего Эванса	4	1	17±0,87	25±0,85	34±1,0	39±1,46	78±3,56
			2	9±1,58	21±1,08	28±1,72	39±3,17	75±4,75
			3	7±1,22	19±1,85	27±2,16	31±2,16	68±1,50
			4	7±1,14	14±0,75	21±2,90	35±3,07	65±2,81
			5	4±0,90	13±1,57	18±1,86	37±1,72	62±2,90
2	То же самое с четырехдневными перерывами	5	1	11±1,74	25±1,80	37±1,41	42±2,72	75±2,65
			2	13±1,35	28±3,20	34±2,35	41±3,30	75±2,45
			3	16±2,0	24±0,90	39±2,28	36±2,36	67±3,0
			4	12±0,90	21±2,33	29±2,14	39±2,82	71±1,41
			5	10±1,19	21±1,94	35±2,36	40±3,52	69±1,74
3	Пятикратное непрерывное применение синего Эванса	4	1	13±2,0	27±2,07	39±1,92		
			2	11±1,0	31±1,22	40±1,76		
			3	10±1,76	26±1,0	35±4,65		
			4	7±1,23	21±2,31	30±2,90		
			5	5±1,48	17±1,23	23±2,75		
4	То же самое с четырехдневными перерывами	4	1	10±1,22	29±2,81	36±3,20		
			2	9±0,82	26±2,50	38±3,25		
			3	11±1,66	34±4,55	43±1,58		
			4	15±1,58	28±2,05	35±2,75		
			5	12±1,32	25±2,10	39±3,0		

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют предложить объективную методику для одновременного изучения функционального состояния общей сосудистой проницаемости и поглотительной способности р.-э. системы. Практически разработанная методика применяется следующим образом: в отдельности на 0,85%-м растворе хлористого натрия готовятся 1% раствор конгорота и 0,5% раствор синего Эванса венгерского производства. Красители подогреваются в водяной бане до полного их растворения и после охлаждения смешиваются друг с другом в равных объемах. Смесь красителей медленно инъецируют в вену уха кролика в дозе 0,8 мл/кг и тут же засекается время. Ровно через 4, 30, 60, 90 и 120 минут после инъекции красителей из противоположной вены получают соответственно пять порций крови по 0,5—0,6 мл в каждой из них. Пробирки с кровью для ускорения отстаивания сыворотки помещаются на 15—20 минут в термостат. Затем осторожно иглой отделяется сгусток свернувшейся крови от внутренней поверхно-

сти пробирки и центрифугируется 10 минут при 1500—2000 об/минуту. Далее из каждой порции сыворотки крови, окрашенной в фиолетовый цвет, берется по 0,2 мл и переносится в отдельные пробирки, содержащие по 1 мл физиологического раствора. Разбавленные сыворотки поочередно вливаются в кюветы с рабочей шириной 3 мм и при красном светофильтре подвергаются дифференцированному колориметрированию на аппарате ФЭК-Н-57. При этом одна и та же испытуемая сыворотка, содержащая оба красителя вместе, колориметрируется дважды: первый раз для определения концентрации синего Эванса, а второй раз — конгорота. Причем концентрация конгорота определяется лишь после добавления 0,1 мл 5 N раствора соляной кислоты* к той же окрашенной и колориметрированной в первый раз сыворотке. После добавления соляной кислоты содержимое пробирок тут же перемешивается и в кислой среде конго красный полностью переходит в конго синий. Поскольку это превращение происходит в той среде, где находится и синий Эванс, то интенсивность окраски последнего соответственно нарастает. Вычитывая первичный показатель колориметрирования от вторичного, определяем относительную концентрацию конгорота в смеси с Эвансом синим. Содержание каждого красителя в первой 4-минутной порции окрашенной сыворотки принимается за 100%, с чем и сравниваются все последующие порции. Процентное снижение концентрации в крови синего Эванса или конгорота за единицу времени соответственно указывает на функциональное изменение общей сосудистой проницаемости или поглотительной способности р.-э. системы.

В заключение отметим, что применяемая нами схема дифференцированного колориметрирования растворов со смешанной окраской не исключает возможность использования и специальных светофильтров.

В ы в о д ы

1. Сыворотка крови предохраняет синий Эванс от обесцвечивающего воздействия на него концентрированного раствора соляной кислоты.

2. При раздельном и совместном применении конгорота и синего Эванса с четырехдневными интервалами общая сосудистая проницаемость и фагоцитарная способность р.-э. системы варьируют в пределах нормы.

3. Непрерывное внутривенное применение смеси конгорота и синего Эванса угнетает сосудистую проницаемость и не изменяет поглотительную способность р.-э. системы.

4. Ежедневное интравенозное впрыскивание синего Эванса подавляет, а введение его с четырехдневными интервалами не нарушает общую сосудистую проницаемость.

* Концентрация соляной кислоты (5 N) содержится в одной ампуле неразбавленного фиксанта.

5. В нормальном организме сосудистая проницаемость и поглощательная способность р.-э. системы внешне функционируют параллельно и независимо друг от друга.

Лаборатория радиационной генетики
АН АрмССР

Поступило 13.V 1965 г.

Է. Կ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

ԸՆԷՀԱՆՈՒՐ ԱՆՈՓՆԵՐԻ ՔԱՓԱՆՅԻԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՌԵՏԻԿՈՒԼՈ-ԷՆԴՈՒԵԼԻԱԿԱՆ ՍԻՍՏԵՄԻ ԿԱՆՈՂՈՒՆԱՆՈՒԹՅԱՆ ՄԻԱԲԱՐԱՆԱԿՅԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՐ

Ա մ փ ո փ ո ռ ի

Կիրառելով կոնգոյոտի և կապուլտ էվանտի ներեքահային խառը բուծույթը, հաշտզվել է մշտեկն ընդհանուր անոթային թափանցիկության և ու-է. սխտեմի ֆունկցիոնալ հատկության միաժամանակյա հետազոտության օրյեկտիվ մեթոդ: Այդ մեթոդով ստացված տվյալները վկայում են, որ նորմալ օրգանիզմում ընդհանուր անոթային թափանցիկությունը և ու-է. սխտեմի կլանողունակությունը դործում են դուրա՛նու և մեկը մյուսից անկախ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ойвин И. А., Ойвин В. И., Юшнин Г. Н. Тр. мед. ин-та, т. 42, в. 5, 1963, Душанбе.
2. Степанян Э. Д. Лабораторное дело, 2, стр. 25—28, 1963.