

նյութերն ակտիվ ճամնակցութիւն են ցուցաբերում սրտի գործունեութիւնը և արյան պսակային շրջանառութիւն նյարդային կարգավորմանը:

THE INFLUENCE OF THE CORONARODILATIVE [NEUROHORMONE "C" ON GOMORI-POSITIVE SUBSTANCES OF THE RAT HEART INTRAMURAL NERVOUS GANGLION NEURONES

S. S. ABRAHAMIAN, A. A. GALOIAN

It has been shown that the hypothalamo-hypophyse neurohormone "C" increases the quantity of gomori-positive substances in the heart neurones after 30 and 60 min of its entervein injection. It is supposed that these substances may participate in the nervous regulation of blood coronary circulation and heart activity.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абрамян С. С., Ростомян М. А., Галоян А. А. Кровообращение, 8, 2, 12—17, 1975.
2. Катинас Г. С., Булгак В. И. и др. Архив АГЭ, 9, 97—104, 1969.
3. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная. М., 861—862, 1962.
4. Ростомян М. А., Абрамян С. С., Галоян А. А. Мат-лы. 4-й Всесоюз. конф. по физиол. вегетативн. нервн. системы, 258, 1976.
5. Ростомян М. А., Абрамян С. С., Галоян А. А. Кровообращение, 10, 4, 3—7, 1977.
6. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. 324, М., 1963.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVI, № 2, 1983

УДК 579.842.13:616—018.73—008.953

К ВОПРОСУ ОБ АДГЕЗИВНОСТИ ТРАНСКОНЪЮГАНТОВ, ОПОСРЕДОВАННОЙ АНТИГЕНАМИ K88, K99, VIR

С. Т. МНАЦАКАНОВ, В. М. БОНДАРЕНКО

На клеточных линиях Henle, Hela, Her-2 у ряда представителей семейства Enterobacteriaceae и их трансконъюгантов была изучена адгезия, опосредованная антигенами K88, K99, Vir.

Показана экспрессия плазмид K88, K99, Vir в штаммах Escherichia coli, Shigella flexneri, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, Hafnia alvei, Enterobacter cloacae, E. aerogenes, Proteus vulgaris, P. morgani. Передача плазмиды K88 реципиентным неадгезивным штаммам E. coli и S. flexneri Ra-хемотипов сообщает им адгезивные свойства в отношении клеток линий Henle и Hela. Наследование плазмид K88, K99, Vir штаммами условно патогенных энтеробактерий, способных прикрепляться к клеткам Her-2, существенно не отражается на уровне адгезивности трансконъюгантов.

Ключевые слова: адгезивность трансконъюгантов, плазмиды K88, K99, Vir, энтеробактерии.

Как установлено в последние годы, в развитии острых кишечных заболеваний важную роль играют факторы адгезии, к которым относят-

ся фимбриальные антигены K88, K99, Vir, факторы колонизации (типа CFA). Установлено, что *E. coli* приобретают вирулентность после того, как бактерии наследуют способность продуцировать антиген K88 [4]. Мутанты *E. coli*, лишенные антигена K88, локализируются в просвете кишечника и вызывают гибель 3% подопытных поросят, в то время как изогенная культура с антигеном K88 вызывала гибель 50% животных [3, 11]. Показано также, что бактерии с антигеном K88 прилипали к щетиночной кайме тонкого кишечника поросят, тогда как K88 негативные штаммы такой способностью не обладали [8]. Более того, оказалось, что варианты *E. coli*, которые теряют способность к продукции фимбрий *in vivo*, не могли колонизировать кишечник и вызывать диарею новорожденных поросят, хотя они и продуцировали энтеротоксин [6].

В то же время рядом авторов было найдено, что антигены K88, K99, Vir не играют роли в развитии диареи у людей [5, 7, 10], т. е. эти антигены не могут опосредовать лигандо-рецепторную взаимосвязь бактерий с клетками кишечника человека.

Однако в последние годы появились сообщения о том, что в отдельных случаях возможна адгезия бактерий на клетках кишечника человека [12] и лимфоцитах [2], опосредованная антигеном K99, хотя и в незначительной степени. Найдена адгезия штамма *S. freundii* на клеточной линии Hela [1].

Целью данной работы явилось изучение адгезивности энтеробактерий, наследующих плазмиды, контролирующие синтез антигенов K88, K99, Vir на модели различных клеточных линий, полученных из различных тканей человека.

Материал и методика. Передача плазмид K88, K99, Vir проводилась по системе HFT [9]. Промежуточным реципиентом служил штамм *E. coli* C600 (2124), окончательными реципиентами — *E. coli* 200 PS, *S. flexneri* R84, *S. freundii*, *K. pneumoniae*, *H. alvei*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *P. vulgaris*, *P. morgani*. Донорами служили штаммы *E. coli* K88, *E. coli* K99, *E. coli* Vir, полученные от H. W. Smith, и *E. coli* AT65 (K88⁺), *E. coli* AT14 (K99⁺), *E. coli* AT95 (Vir⁺), выделенные от больных острыми кишечными заболеваниями детей. Селекция проводилась по резистентности к рифампицину и ампициллину.

Для выявления адгезии штаммы выращивались на минимальной среде с ³H-глюкозой. Через 18 ч инкубации выросшие бактерии трижды отмывались физиологическим раствором и в концентрации $1 \cdot 10^8$ /мл вносились в 3-суточный монослой клеток Hepla, Hela, Hep-2. Инфицированный мелеными энтеробактериями монослой трижды промывался 0,02%-ным раствором версена. Версенизированные клетки осаждались на миллиметровые фильтры Synrog AUF5 с диаметром пор 1,3 мкм, промывались 20 мл физиологического раствора, однократно — 10 мл этилового спирта с последующим промыванием физиологическим раствором. Высушенные фильтры помещались во флаконы для подсчета радиоактивности при заливке 5 мл стандартного толуолового стинтиллятора. Уровень радиоактивности определялся при помощи жидкостного счетчика Intertechnique SL-20.

Для выявления специфичности адгезии добавлялась 1%-ная D-манноза.

Результаты и обсуждение. При проведении опытов по передаче плазмид K88, K99, Vir было установлено, что они передавались на штаммы *E. coli* 200 PS и *S. flexneri* R84 с частотой $1 \cdot 10^{-4}$ — $1 \cdot 10^{-5}$, тогда как бактерии реципиентных штаммов *S. freundii*, *K. pneumo-*

nae, *H. alvei*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *P. vulgaris*, *P. morganii* воспринимали указанные плазмиды с частотой $1 \cdot 10^{-5}$ — $1 \cdot 10^{-7}$.

На клеточной линии Henle была изучена адгезия донорных культур *E. coli* K88, *E. coli* AT65 (K88⁺), реципиентной культуры *E. coli* 200 PS, трансконъюганта *E. coli* AT65 (K88⁺) × *E. coli* 200PS и «дикого» штамма *E. coli* 303/4 (K88⁺), выделенного г. Ереване.

На клетках линии Hela была определена адгезия донорного штамма *E. coli* AT65 (K88⁺), реципиентного штамма *S. flexneri* R84 и двух трансконъюгантов *E. coli* AT65 (K88⁺) × *S. flexneri*, R84.

Результаты определения адгезии, полученные на клеточных линиях Henle и Hela, приведены в табл. 1, согласно данным которой донор-

Таблица 1
Результаты определения адгезивности на клеточных линиях Henle и Hela

Штамм	Клеточная линия	Частота импульсов*	
		D-манноза	
		+	—
<i>E. coli</i> K88	Henle	130	190
<i>E. coli</i> AT65 (K88 ⁺)	Henle	127	193
<i>E. coli</i> 200PS	Henle	7	149
<i>E. coli</i> AT65 (K88 ⁺) × <i>E. coli</i> 200 PS	Henle	137	203
<i>E. coli</i> 303/4 (K88 ⁺)	Henle	115	174
<i>E. coli</i> AT65 (K88 ⁺)	Hela	100	119
<i>S. flexneri</i> R84	Hela	8	7
<i>E. coli</i> AT65 (K88 ⁺) × <i>S. flexn.</i> R84/1	Hela	53	54
<i>E. coli</i> AT65 (K88 ⁺) × <i>S. flexn.</i> R84/2	Hela	45	45

* — данные приведены в имп/мин. × 10².

ные штаммы *E. coli* K88 и *E. coli* AT65 (K88⁺) обладали способностью прикрепляться как к клеткам Henle, так и к клеткам Hela. Реципиентные штаммы *E. coli* 200 PS и *S. flexneri* R84 Ra-хемотипа такой способностью не обладали. В отличие от шигелл, бактерии штамма *E. coli* 200 PS прикреплялись к клеткам Henle лишь при отсутствии D-маннозы, тогда как добавление углевода подавляло адгезию этого штамма, которая была обусловлена, по-видимому, наличием ресничек общего типа, чувствительных к D-маннозе. Штамм *S. flexneri* R84 ресничками общего типа не обладал, ввиду чего адгезия его на клетках Hela как в присутствии D-маннозы, так и без нее составляла 7—8 имп/мин · 10². В то же время приобретение *E. coli* 200 PS плазмиды K88, кодирующей синтез антигена K88, сообщало трансконъюганту способность прикрепляться к клеткам Henle, причем адгезия трансконъюганта не подавлялась прибавлением 1%-ной D-маннозы.

Проверка же трансконъюгантов *S. flexneri* R84, K88⁺, приобретших

плазмиду K88 на клеточной линии Hela, показала появление у них четко выраженной D-маннозрезистентной адгезии.

Следует отметить, что адгезия трансконъюганта *E. coli* 200 PS K88⁺ на клетках Heple была вдвое выше, чем таковая трансконъюгантов *S. flexneri* R84, K88⁺ на клетках линии Hela, что, по всей вероятности, объясняется происхождением клеточных линий—клетки Heple, как известно, являются клетками эпителия кишечника человека, а клетки Hela—эпителия шейки матки человека.

В связи с этим следует отметить, что штаммы эшерихий, выделенные при острых кишечных заболеваниях человека и синтезировавшие антиген K88, обладали выраженной адгезивностью в отношении клеток линии Heple, причем эта способность в одинаковой степени была выражена как у «диких» штаммов (*E. coli* AT65 K88⁺, *E. coli* 303/4 K88⁺ так и у штамма, полученного от H. W. Smith (*E. coli* K88⁺).

На клеточной линии Her-2 была испытана адгезивность реципиентных штаммов *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *H. alvei*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *P. vulgaris*, *P. morgani* и трансконъюгантов, полученных при скрещиваниях с донорами *E. coli* K88⁺, *E. coli* K99⁺, *E. coli* Vir⁺, *E. coli* AT65 (K88⁺), *E. coli* AT14 (K99⁺) и *E. coli* AT95 (Vir⁺).

Результаты опытов на клеточной линии Her-2 приведены в табл. 2.

Таблица 2

Адгезивность некоторых видов энтеробактерий и их трансконъюгантов на клеточной линии Her-2

Штамм	Синтез антигенов	Частота импульсов*	
		D-манноза	
		+	-
<i>C. freundii</i>	—	80	72
<i>E. coli</i> K88 ⁺ × <i>C. freundii</i>	K88	84	80
<i>E. coli</i> K99 ⁺ × <i>C. freundii</i>	K99	82	82
<i>E. coli</i> Vir ⁺ × <i>C. freundii</i>	Vir	88	86
<i>K. pneumoniae</i>	—	48	74
<i>E. coli</i> AT65 K88 ⁺ × <i>K. pneumoniae</i>	K88	50	70
<i>E. coli</i> AT14 K99 ⁺ × <i>K. pneumoniae</i>	K99	52	72
<i>H. alvei</i>	—	44	120
<i>E. coli</i> K88 ⁺ × <i>H. alvei</i>	K88	46	110
<i>E. cloacae</i>	—	58	136
<i>E. coli</i> K99 ⁺ × <i>E. cloacae</i>	K99	60	132
<i>E. aerogenes</i>	—	54	148
<i>E. coli</i> K88 ⁺ × <i>E. aerogenes</i>	K88	62	140
<i>P. vulgaris</i>	—	100	148
<i>E. coli</i> K99 ⁺ × <i>P. vulgaris</i>	K99	120	146
<i>P. morgani</i>	—	124	174
<i>E. coli</i> AT14 K99 ⁺ × <i>P. morgani</i>	K99	126	182

* Данные приведены в имп/мин × 10².

Данные этой таблицы, касающиеся адгезии бактерий—представителей родов *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, подтверждают существующее в литературе мнение о том, что при наличии «своей» адгезивности у реципиентов дополнительное введение в бактериальную клетку плазмид K88, K99, Vir не приводит к дальнейшему повышению уровня их адсорбции на клетках [7].

Таким образом, при введении в бактериальную клетку плазмиды K88 у штаммов *E. coli* появляется способность прикрепляться к клеткам кишечника человека (клеточная линия Henle) и клеткам Hela, причем у трансконъюгантов K88 адгезия к клеткам эпителия кишечника человека более выражена, чем к клеткам Hela. Подобные результаты позволяют предположить, что в определенных случаях *E. coli*, способные к синтезу антигена K88, могут прикрепляться к эпителиальным клеткам кишечника человека и колонизировать его, что в свою очередь может играть патогенетическую роль в возникновении диарейных заболеваний у людей.

Армянский ордена Трудового Красного Знамени
НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской
паразитологии им. А. Б. Алексаняна

Поступило 6.XI 1982 г.

K88, K99, VIR ԱՆՏԻԳԵՆԵՐՈՎ ՊԱՅՄԱՆԱՎՈՐՎԱՍԾ
ՏՐԱՆՍԿՈՆՅՈՒԳԱՆՏՆԵՐԻ ԱԴԳԵԶԻՎՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՅԻ ՇՈՒՐՁԸ

Ս. Տ. ՄՆԱՏԱԿԱՆՈՎ, Վ. Մ. ԲՈՆԴԱՐԵՆԿՈ

Ուսումնասիրված է էնտերոբակտերիաների որոշ տեսակների՝ *E. coli*, *S. flexneri* 84, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *H. alvei*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *P. vulgaris*, *P. morganii* տրանսկոնյուգանտների ադգեզիվությունը:

Հաստատված է, որ *E. coli* 200 PS և *S. flexneri* 84 ունեցիպիենտների K88 պլազմիդայի ձեռք բերումը տրանսկոնյուգանտներին հաղորդում է Henle և Hela գծային բջիջներին կպչելու հատկություն, ընդ որում՝ տրանսկոնյուգանտների D-մաննոզակայուն ադգեզիան Henle բջիջների վրա երկու անգամ ավելի բարձր է, քան Hela բջիջների վրա, մինչդեռ էնտերոբակտերիաների պայմանական պաթոգեն ունեցիպիենտային շտամների մոտ «իրենց» ադգեզիվության առկայության դեպքում K88, K99, Vir պլազմիդների լրացուցիչ ներարկումը բակտերիալ բջիջի մեջ չի հանգեցնում էպիթելի վրա նրանց ադսորբցման մակարդակի հետագա բարձրացման:

ON THE TRANSCONJUGANTES' ADHESIVENESS
DETERMINED BY K88, K99, VIR ANTIGENS

S. T. MNATSAKANOV, V. M. BONDARENKO

The subject of investigations has been the adhesiveness of transconjugantes of such enterobacteria, such as *E. coli*, *S. flexneri* R84, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *H. alvei*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *P. vulgaris*, *P. morganii*. It is proved that *E. coli* 200PS and *S. flexneri* R84 recipiential acquisition of K88 plasmid gives the transconjugantes the ability of fastening to *Henle* and *Hela* cells. D-mannoso-constant adhe-

sion of transconjugantes on *Henle* cells is twice higher than that on *Hela* cells, while in the presence of their "own" adhesiveness in reciprocal strains of conditionally pathogenic enterobacteria the additional administration of K88, K99, Vir plasmids into bacterial cell has not resulted in further increase of the adsorption level on epithelium.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бондаренко В. М., Попов В. Л., Тимофеева И. Т. Ж. Микробиол., 6, 64, 1981.
2. Fellberg N. H., Heron I. Acta path. microbiol. scand., B88, 249, 1980.
3. Jones G. W., Rutter J. M. Infect. and Immun., 6, 918, 1972.
4. Jones G. W., Rutter J. M. J. Gen. Microbiol., 85, 135, 1974.
5. Moon H. W., Nagy B., Isaacson R. E., Orskov I. Infect. and Immun., 15, 614, 1977.
6. Nagy B., Moon H. W., Isaacson R. E. Acta Microbiol., Ac. Sci. hung., 25, 117, 1988.
7. Smith H. W., Linggood M. A., J. Med. Microbiol., 4, 467, 1971.
8. Selwood R. R., Gibbons R. A., Jones G. W., Rutter J. M. J. Med. Microbiol., 8, 405, 1975.
9. Stocker B. A. D., Smith S., Ozeki H. J. Gen. Microbiol., 30, 201, 1963.
10. Thorne G. M., Gorbach S. L. J. Amer. Vet. Med. Assos., 173, p. 2, 592, 1978.
11. Wilson M. R., Hohman A. W. Infect. and Immun., 10, 776, 1974.
12. Wadström T., Faris A., Freer J., Habte D., Hallberg D., [Ljungh A. Scand. J. Infect. Dts., 24, 148, 1980.

«Биолог. ж. Армения», т. XXXVI, № 2, 1983

УДК 616.15—006

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О РЕАКТИВНОСТИ МАКРОФАГАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУННОГО ОТВЕТА

М. З. БАХШИНЯН

Макрофаги, или клетки системы мононуклеарных фагоцитов, имеют костномозговое происхождение и различные функции. Они участвуют в поддержании гомеостаза, в противоопухолевом иммунитете. Возможна их активация витамином А—увеличение содержания, размеров, усиление фагоцитарной функции.

Ключевые слова: фагоцитоз, иммунный ответ.

Наличие в организме клеток, осуществляющих защитную функцию путем фагоцитоза чужеродных агентов, было доказано Мечниковым (1905 г.). Эти клетки были названы макрофагами.

В настоящее время известно, что макрофаги, или клетки системы мононуклеарных фагоцитов, имеют костномозговое происхождение [57] и включают в себя промоноциты костного мозга, моноциты крови и тканевые макрофаги (фиксированные и свободные). Основными критериями принадлежности клеток к системе мононуклеарных фагоцитов является наличие эстеразной активности, содержание пероксидазо-по-