

его производных, но и молекулярного йода, были предложены другие механизмы этого явления. В экспериментах с очищенной м-МДГ из сердечной мышцы свиньи было установлено, что инактивация фермента наступает при окислении под влиянием йодсодержащих соединений 0-ти из 14-ти имеющихся в молекуле фермента SH-групп [16]. При этом отмечалась дезагрегация фермента на неактивные субъединицы [7]. Было показано также, что при инкубации м-МДГ из сердечной мышцы свиньи с эфиром тироксина метилтироксингидрохлоридом наблюдается 90%-ное ингибирование активности фермента вследствие связывания двух аминокислот на стереоспецифическом рецепторном участке. Установлено, что присоединение тироксина приводит к инактивации в результате снижения скорости связывания ферментом НАД [15].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кочетков Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М., 1971.
2. Мовсесян С. Г., Бурназян Л. Б. Вопросы биохимии мозга, 19, 84—90, Ереван, 1975.
3. Мовсесян Н. О., Хузарян М. А., Мовсесян С. Г. Лабор. дело, 7, 445, М., 1976.
4. Усатенко М. С., Цончева А. В. Вопр. мед. химии, 29, 4, 401—406, 1974.
5. Юрков Ю. А., Волкова Л. Д. Лабор. дело, М., 11, 646, 1973.
6. Allison M. S., Gerszten E., Sanchez B. Endocrinology, 74, 87, 1964.
7. Covelli J., Consiglio E., Varrone S. BBA, 184, 678, 1969.
8. Davis B. Y. Ann. New York Acad. Sci., 121, 404, 1964.
9. Kitto G. B. and Kaplan N. O. Biochemistry 5, 3966—3980, 1966.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. Y., Farr A. L. and Randall R. J. J. Biol. Chem., 19, 265, 1951.
11. Loos Y. P., Lardy U. A. J. Biol. Chem., 249, 3, 1427—1436, 1965.
12. Moore R. O., Vitte C. A. Science, 142, 389—390, 3586, 1963.
13. Sharma R., Palnait S. K. Development Growth and differentiation multilingual journal, 24, 5, 501, 1982.
14. Thorne C. J. N., Grossman L. I., Kaplan N. O. BBA, 73, 193—203, № 2, 1963.
15. Ullman E. F. et al. BBA, 567, 66—74, 1979.
16. Varrone S. et al. Eur. J. Biochem, 15, 305—312, 1970.
17. Wolff E. C., Bail E. G. J. Biol. Chem., 224, 1083—1098, 1957.
18. Wieland T., Pfleiderer G., Hompt W., Wörner W., Biochem. Z., 331, 103—109, 1959.

Получено 3.1 1984 г.

Зоолог. ж. Армения, т. 40, № 7, 565—571, 1987 УДК 619.616-006.146-002.6/6:36.2

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛИМФОЛЕЙКОЗА НА БЕЛЫХ КРЫСАХ

Э. Д. СТЕПАНИН, Р. А. ПЕТРОСЯН, Л. П. БЕДЖАНОВА,  
А. С. АХВЕРДЯН

Ари. НИИВ, лаборатория лейкоза животных, Ереван

**Аннотация** — Выяснена реальная возможность моделирования лимфолейкоза крупного рогатого скота на белых крысах. Определено значение способов предотвращения свертываемости лейкозной крови в биологических эффектах ее действия на организм. Установлена степень выраженности лейкозным началом элементов белой крови больных лимфолейкозом человека в крупного рогатого скота.

Անտացիա — Պարզվել է խոշոր էղջերավոր կենդանիների լիմֆոցիտոզը սպիտակ առնետների վրա վերարտադրելու ունակ հնարավորությունը: Որոշվել է լիմֆոցային արյան մակարդակի ությունը կանխելու միջոցների նշանակությունը օրգանիզմի վրա և նրանց ազդեցության կենսաբանական էֆեկտիվությունը: Հաստատվել է լիմֆոցիտոզով հիվանդ մարդկանց ու կենդանիների օրգանիզմում լիմֆոցային սկզբնապատճառով սպիտակ արյան տարրերի արտահարվածության աստիճանը:

**Abstract** — The real possibility of the big horned cattle lymphoid leukemia modelling on white rats was revealed. The value of leukemia blood coagulability methods and its biological effects on animals were determined. The degree of lesion of white blood elements caused by leukemia agent in patients and animals suffering from lymphoid leukemia was established.

*Ключевые слова:* моделирование лейкоза, лейкоцитоз, лейкоэмические лейкоциты.

В сравнительной лейкозологии утверждается представление об общности причины возникновения гемобластозов человека и крупного рогатого скота (КРС), а также о сходстве механизмов их развития и основных клинико-морфологических проявлений [5, 14]. Это послужило стимулом для интенсивного развертывания работ по экспериментальному воспроизведению различных форм лейкозов человека и КРС на мелких лабораторных животных [15]. Однако литературные сведения об этом неоднозначны и подчас носят противоречивый характер [1—4, 6—13, 15—17, 19—22]. Согласно данным Федорова и Катехелидзе [18], парентеральное введение белым крысам материала, полученного от больных лимфолейкозом или миелолейкозом людей, вызывает у них характерные изменения в системе белой крови. Аналогичные явления наблюдались у белых крыс при введении патологического материала от больных лейкозом КРС.

Придавая важное значение подобного рода исследованиям в решении ряда актуальных задач (этиология, диагностика, лечение и пр.) современной лейкозологии, мы предприняли попытку экспериментального воспроизведения лимфолейкоза КРС на белых крысах.

*Материал и методика.* Исследования проводили на белых крысах (150—200 г) обоего пола линии Вистар. Испытуемым материалом служили отдельные компоненты (плазма, разрушенные лейкоциты) крови явно больной лимфолейкозом коровы (№ 3834). Количество лейкоцитов у нее колебалось в пределах 27—45 тыс./мм<sup>3</sup> с 80—95% -ным содержанием лимфоцитов.

Взвесь лейкоцитов (лимфоцитов) получали из патологической крови известным методом осмотического лизиса эритроцитов в дистиллированной воде. Отмытые физиологическим раствором лейкоциты, содержащие приблизительно 50—75 тыс./мм<sup>3</sup>, трижды разрушали попеременно замораживанием их и оттаиванием при комнатной температуре (17°). Разрушенные лейкоциты разбавляли физиологическим раствором в соотношении 1:10 и по 1 мл вводили внутривентрально белым крысам. В таком же количестве применялась плазма лейкозной крови.

Лейкозогенную активность испытуемого материала определяли в динамике в течение 70-ти дней путем подсчета абсолютного количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови подопытных крыс. Опытные группы составили 5—7, а контрольные—3—5 крыс. Контролем служили крысы, обработанные при прочих равных условиях отдельными компонентами (плазма, разрушенные лейкоциты) крови интактной коровы.

*Результаты и обсуждение.* Поскольку объектом исследования являлась периферическая кровь животных, вначале изучалось значение

способов предотвращения свертываемости крови в ее биологических эффектах с помощью применения раствора гепарина (5 ед.) (1 мл), трилона «Д» (0,4 мг) (1 мл), а также дефибринизацией.

Выяснилось, что почти независимо от способов предотвращения свертываемости крови введение крысам плазмы и особенно разрушенных лейкоцитов интактного животного вызывает кратковременное (10 дней) увеличение количества лейкоцитов. На 20-й день лейкоцитоз несколько ослаблялся с последующей его нормализацией. В этих условиях процентное содержание лимфоцитов крови варьировало в пределах нормы. Между тем инъекция крысам плазмы лейкозной крови вызывала обычно кратковременное (10 дней) повышение количества лейкоцитов. На 20-й день лейкоцитоз несколько ослаблялся, а с 30-го дня прогрессивно нарастал, достигая максимума к 50-му дню наблюдений с последующей тенденцией к нормализации. Более резкая картина двухфазного усиления лейкоцитоза наблюдалась при введении крысам разрушенных лейкоцитов крови лейкозного животного.

Как видно, применение различных способов предотвращения свертываемости крови больше влияет на эффекты биологического действия отдельных компонентов крови лейкозного животного по сравнению с интактным. К тому же обработка гепарином вызывает у крыс сильное повышение лейкоцитов, трилоном—умеренное, дефибринизацией—наиболее слабое.

Полученные результаты свидетельствуют также о более высокой биологической активности разрушенных лейкоцитов по сравнению с плазмой крови как интактного, так и лейкозного животного. Значительные расхождения отмечались и между результатами действия разрушенных лейкоцитов крови интактного и лейкозного животного, что в первую очередь могло быть обусловлено введением неодинакового количества лейкоцитов, поскольку у интактного животного их число варьировало в пределах 9—12 тыс., а у лейкозного—27—45 тыс./мм<sup>3</sup> крови. Для проверки этого предположения количество лейкоцитов интактного и лейкозного животного доводилось до одинакового уровня (50 тыс./мл) и после обычного разрушения их вводилось по 1 мл внутривенно крысам. Однако и в данном случае наблюдалось соответственно однофазное и двухфазное повышение количества лейкоцитов. Причем процесс индуцированного лейкоцитоза, как и в предыдущих опытах, протекал интенсивнее при воздействии разрушенных лейкоцитов крови лейкозного животного по сравнению с интактным. Стало быть, более высокая биологическая активность лейкоцитов крови лейкозного животного определялась не количественными, а качественными изменениями ее.

Рассматривая фазовые изменения лейкоцитоза через призму двойственной природы действия болезнетворных агентов на организм, можно полагать, что первая фаза лейкоцитоза, вызванная введением крови интактного или лейкозного животного, преимущественно выражает защитно-физиологическую реакцию, направленную на обезвреживание генетически чужеродной крови и сохранение относительного постоян-

ства внутренней среды организма. А вторая фаза, индуцированная только лейкозной кровью, отражает развитие лейкозоподобного процесса. Правомерность сделанного допущения подтверждается болезненным состоянием подопытных крыс, обработанных лейкозным материалом, значительным увеличением у них абсолютного количества лимфоцитов, характерным для этого заболевания, а также высокой смертностью. Оставшиеся в живых подопытные крысы, вероятно, переболели лейкозоподобным заболеванием.

Учитывая качественные изменения, наступающие в лейкозной крови, мы имели основание предположить, что эти изменения в первую очередь должны сказаться на жизнеспособности лейкоцитов. Это предположение проверялось путем определения жизнеспособности элементов белой крови лейкозного животного с помощью применения трипановой сини, избирательно окрашивающей нежизнеспособные клетки, а также протеолитического фермента трипсина, электроивно их разрушающего. Использовали также сапонин, полагая, что нежизнеспособные лейкоциты патологической крови, по сравнению с относительно нормальными клетками, окажутся менее резистентными к указанному гемолитическому веществу.

Известными в цитологии методами к взвеси лейкоцитов нативной или патологической крови добавляли в определенных соотношениях либо раствор трипановой сини (0,05%), либо кристаллического трипсина (0,5%), либо сапонина (0,02%). Пробирки с содержимым помещали на 30—45 мин в термостат. И после подсчета окрашенных или сохранившихся в целости лейкоцитов выводили процент нежизнеспособных клеток.

Как выяснилось (табл. 1), число нежизнеспособных лейкоцитов интактного животного, находящегося в смеси с трипановой синью, трипсином или сапонином, достигало соответственно 10, 7 и 5%. В этих же

Т а б л и ц а 1. Жизнеспособность лейкоцитов крови интактного и лейкозного животного

Условия опыта	Число проб	Процент нежизнеспособных лейкоцитов ( $M \pm m$ )
Трипановая синь + лейкоциты нативные	15	10 ± 0.5
Трипановая синь + лейкоциты патологические	20	45 ± 3.0
Трипсин + лейкоциты нативные	10	7 ± 0.3
Трипсин + лейкоциты патологические	15	32 ± 2.0
Сапонин + лейкоциты нативные	15	5 ± 0.1
Сапонин + лейкоциты патологические	20	36 ± 2.5

условиях указанный показатель лейкозного животного находился в пределах 32—45%. Почти одинаковое число нежизнеспособных лейкоцитов, выявленное в патологической крови различными средствами и методами, свидетельствует о том, что только 25—35% их из общей массы белой крови поражено лейкозным началом.

С установлением факта избирательного разрушения сапонином нежизнеспособных лейкоцитарных лейкоцитов открывалась реальная возможность проверить сделанное выше предположение и на белых крысах.

Таблица 2. Влияние обработанных сапонном лейкоцитов крови интактного и лейкозного животного на лейкоцитоз белых крыс (M ± m)

Условия опыта	Количество лейкоцитов лимфоцитов, тыс. мм <sup>3</sup>							
	Дни исследований							
	4	10	20	30	40	50	60	70
Контроль	12.8/7.7	12.6/7.8	13.6/6.7	12.0/6.8	11.7/6.8	14.0/7.5	11.9/6.8	13.4/7.1
Экстракт нативных лейкоцитов (надосапок)	15.2/8.6	19.3/9.6	17.1/10.6	14.0/8.9	12.5/7.0	13.1/8.2	14.1/7.8	13.4/8.7
Экстракт нативных лейкоцитов (осапок)	17.1/8.8	21.4/11.0	19.1/10.9	15.0/9.6	13.4/7.0	13.0/7.8	25.6/3	13.4/8.7
Экстракт патологических лейкоцитов (надосапок)	16.8/8.5	22.6/9.9	17.5/9.2	28.0/21.2	32.0/24.2	30.0/23.5	25.0/18.0	20.3/13.0
Экстракт патологических лейкоцитов (осапок)	18.0/9.8	20.5/11.1	19.0/12.5	19.0/12.5	17.0/9.4	15.1/8.4	12.0/7.8	12.6/8.0

Примечание: средняя квадратическая ошибка ( $\pm m$ ) колебалась для лейкоцитов в пределах 0,50—1,70, лимфоцитов—0,30—0,95. Число животных в контроле—5, в опыте—7.

К взвеси лейкоцитов патологической крови добавляли определенное количество сапонина (0,02%) и после 5—10 мин выдерживания на холоду (+4°) центрифугировали в течение 10 мин при 500 об/мин. Надосадочный экстракт лейкоцитов отделяли от осажденных пельных лейкоцитов и последние обычным способом разрушались. Полученные таким путем экстракты лейкоцитарных и относительно нормальных лейкоцитов крови лейкозного животного разбавляли физиологическим раствором в соотношении 1:10 и по 1 мл вводили в отдельности внутривенно крысам. В качестве контроля при прочих равных условиях испытывали экстракты лейкоцитов крови интактного животного.

Опыты показали (табл. 2), что парентеральное введение крысам экстракта лейкоцитов крови интактного животного, полученного из осадка или надосадочной взвеси клеток, вызывает, как обычно, однофазное увеличение количества лейкоцитов. Сходная картина наблюдалась и при инъекции крысам разрушенных лейкоцитов крови лейкозного животного, взятых из осажденных клеток. Между тем введение обработанных сапонином лейкоцитов лейкозного животного, полученных из надосадочной жидкости, вызывает характерное двухфазное повышение количества лейкоцитов у белых крыс. Это говорит о том, что лейкогенная активность патологической крови обусловлена главным образом лейкоцитарными лейкоцитами, составляющими приблизительно 25—35% общей массы белой крови лимфолейкозного животного.

Однако более веским доказательством правомерности сделанного заключения являются результаты эпизоотологических исследований лейкоза КРС, проведенных с помощью одновременного подсчета лейкоцитов крови животных под микроскопом и на целлюлозно-бумажном производстве «Пякокекель». При этом у явно больных лимфолейкозом животных подсчет лейкоцитов крови на целлюлозно-бумажном производстве показывал заниженные на 25—35% цифры, по сравнению с таковыми под микроскопом. И, главное, подобное расхождение не отмечалось при подсчете указанными методами лейкоцитов крови здоровых животных и даже животных с заболеваниями нелейкозной этиологии. Буквально такая же картина была выявлена и при определении этими методами количества лейкоцитов крови здоровых и больных лимфолейкозом людей.

Подробными исследованиями причин указанного расхождения были выяснены, что оно вызывается сапонином (0,02%), входящим в составную часть разбавителя крови, применяемого для определения количества лейкоцитов на целлюлозно-бумажном производстве.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абакидзе Н. И., Ларионова Н. Г., Цаная И. С., Обишвили М. Г. Тр. Инт-экспер. и клин. хирургии, 13, Тбилиси, 1973.
2. Агеев А. И. Вопросы онкологии, 9, 7, 1961.
3. Аризорва З. Г. Вопросы перелив. крови, 7, Харьков, 1962.
4. Бергольц В. М. Пробл. гематологии, 1, 1957.
5. Бергольц В. М., Кисляк Н. С., Еремеев В. С. В кн.: Иммунология и иммунопатология лейкоза. М., 1978.
6. Васильева Н. Т., Рудянцева Н. В., Черняк В. З. В кн.: Лейкозы сельскохозяйственных животных. М., 1966.
7. Вадро М. М., Бергольц В. М., Корженкова М. Т. Педиатрия, 3, 1977.

8. Доронин Н. Н., Бусол В. А., Субаев Г. Х. В кн.: Лейкоз крупного рогатого скота. Киев, 1976.
9. Иванов П. А., Погуляева Л. В., Жданова М. Е. В кн.: Лейкозы сельскохозяйственных животных. М., 1975.
10. Кавццкий Р. Е. В кн.: Механизмы лейкологенеза. Киев, 1975.
11. Киндзальский Л. П., Прибыльский В. И. Вopr. онкологии, 11, 1963.
12. Колыкова В. Н. Вopr. онкологии, 7, 9, 1961.
13. Лодс Э. О., Бульбе Н. X. Тез. докл. Всесоюзн. конф. по лейкозам, Рига, 1973.
14. Основные результаты научн. исследов. по проблеме лейкозов человека и животных за 1971—1975 гг. М., 1977.
15. Прейса Н. Е., Блузманис Я. Р. В кн.: Проблемы лейкоза. Рига, 1968.
16. Стасенко В. С. В кн.: Лейкозы и опухоли животных. М., 1981.
17. Троицкая А. С. Мат-лы научно-практ. конф. ортопедов-травматол., Тула, 1966.
18. Федоров А. П., Калегемидзе М. Г. Пробл. гемат. и трансфузии крови, 2, 50, М., 1976.
19. Яковлева С. Д. Вопросы вирусологии, 5, 559, 1960.
20. Magrassi F., Leonard C., Negroni G., Tolu A. Acta haemat., 6, 38, 1951.
21. Mas-y-Magro T. Saag, 25, 160, 1951.
22. Riman J., Vesely K. Proc. Int. Enzyme Chemistry, 453, Tokyo and Kyoto, 1958.

Поступило 22.X 1986 г

## ВЫЯВЛЕНИЕ НОВЫХ ЭФФЕКТИВНЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ

М. И. АГАДЖАНОВ, Л. А. БАРСЕГЯН, В. С. ГРИГОРЯН, Ш. А. КАЗАРЯН

Ереванский государственный медицинский институт

**Аннотация** — Проведено сравнительное изучение антиоксидантных свойств некоторых фенольных соединений. На модели ожоговой травмы показано, что наиболее сильное подавляющее влияние на образование конъюгированных диенов оказывает гамма-пропанол, затем фенозан-28, фенозан-1 и, наконец, фенол-52 и фенол-53. Проводится параллель между структурой препаратов и их антиоксидантными свойствами.

**Անոտացիա** — Կատարվել է ֆենոլային շարքի մի քանի սինթետիկական և կառուցվածային հատկությունների համեմատական ուսումնասիրություն: Այրվածքային վնասվածքի մոդելի վրա ցույց է տրվել, որ կոնյուգացված դիենների աճիցուկի իջեցման զործում առավել ուժեղ ազդեցություն է ցուցաբերում զամապրոպանոլը, ֆենոզան-28-ը, ֆենոզան-1-ը և, վերջապես, ֆենոլ-52-ը և ֆենոլ-53-ը:

Անց է կացվել համեմատություն երանց կառուցվածքի և հակաթթվազանային հատկությունների միջև:

**Abstract** — A comparative study of antioxidant properties of some phenol compounds was made. On the model of burn trauma it was shown that the suppression of the superfluous formation of conjugated dienes exerts —propanol, phenozone-28, phenozone-1, phenol-52 and phenol-53.

A parallel between the structure of preparations and their antioxidant properties was pursued.