

radiosensibilizator N-ethylmaleimide activate Fe^{2+} -induced endogenous lipids peroxide oxidation, decrease optical density of suspensions and suppress oxygen consumption and oxidative phosphorylation.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бурлакова Е. Б., Дзантиев В. Г., Сергеев Г. Б., Эмануэль Н. М. В кн.: Биохимические и физико-химические основы биологического действия радиации. М., 1957, стр. 10.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
3. Мэдди Э. Биохимическое исследование мембран. М., 1979.
4. Попов Г. А., Конев В. В. Биофизика, 1979, 24, 1, стр. 168.
5. Попов Г. А., Конев В. В. Радиобиология, 1978, 18, 4, стр. 507.
6. Сейланов А. С., Попов Г. А., Конев В. В. Биофизика, 1982, 26, 5, стр. 906.
7. Fliske C. N., Subarrow Y. J. Biol. Chem., 1925, 66, 37.
8. Hunter F. E., Gebicki J. M., Hoffsten P. E., Weinstein J. & Scott A. J. Biol. Chem. 1963, 238, 2, 828.
9. McKnight R. C., Hunter F. E., Oehlert Jr. & W. H. J. Biol. Chem., 1965, 240, 8, 3439.
10. Loury O., Rosenbrough N. et al. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
11. McNeill C. J., Banford J. C., Brown D. N., Smith W. E. FEBS Lett., 1981, 133, 1, 175.

УДК 576.851:214

Л. Г. ГОРИНА, С. А. ГОНЧАРОВА, И. В. ЖЕВЕРЖЕЕВА,
Н. Д. ВАРТАЗАРЯН

ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРСИСТЕНЦИИ Л-ФОРМ СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ «В» У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ЗАРАЖЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Изучение инфекционного процесса, вызванного Л-формой стрептококка группы В, свидетельствует о формировании в организме животных очага персистенции, где, по всей вероятности, происходит репродукция микроорганизмов и перераспределение их по мере поступления в циркуляторное русло.

Ранее считалось, что стрептококк группы В является типичным комменсалом среди нормальной флоры верхних дыхательных путей и мочеполового тракта у человека. В течение последних 15 лет установлена причастность этого возбудителя к сепсису у новорожденных [9]. Смертность среди новорожденных, инфицированных стрептококком группы В, колеблется в пределах от 14 до 100% и зависит от клинических проявлений [10]. Кроме того, показана возможность участия стрептококка группы В в патогенезе ревматоидного артрита человека [5, 11]. Активация бессимптомной формы инфекции, по всей вероятности, связана с персистенцией стрептококков. Так, в исследованиях Zúgradnichy [12] отмечено, что у матерей и отцов в течение двух лет после рождения ребенка наблюдается персистенция данных микроорга-

низмов. Весьма вероятно, что широкое применение антибиотиков приводит к трансформации и индукции Л-форм у этого возбудителя. В то же время почти нет сведений, касающихся изучения персистенции Л-форм стрептококка группы В, и исследований патологических процессов, вызванных им.

Нами проведены экспериментальные исследования инфекционного процесса в условиях однократного заражения животных. Длительность персистенции Л-форм определяли посредством выявления антигенов Л-форм и антител к ним в циркуляторном русле и органах инфицированных крыс.

Материал и методы

Стабильные Л-формы стрептококка группы В (штамм 090R) были получены по общепринятой методике [6]. Штамм Л-форм был адаптирован к жидкой питательной среде с добавлением кроличьей сыворотки вместо лошадиной с целью предотвращения перекрестов при постановке серологических реакций.

Антисыворотку к Л-форме стрептококка группа В получали иммунизацией кроликов культурой Л-форм из расчета $1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/мл на 1 кг массы кролика. Схема иммунизации описана ранее [7].

Растворимый антиген Л-форм получали путем ультразвуковой дезинтеграции биомассы $20 \text{ КЦ} \cdot 10^7$ КОЕ/мл в течение 20 мин (режим работы при 2°C). После центрифугирования дезинтеграта при $40000 \times g$ в течение 30 мин супернатант использовали в качестве растворимого антигена в серологических реакциях. Белок определяли спектрофотометрически при 280 нм.

Для определения в сыворотке крови и органах зараженных животных антигена Л-форм стрептококка группы В использовали реакцию агрегат-гемагглютинации (РАГА), описанную ранее [2, 3]. Чувствительность тест-системы составила тысячную долю мкг/мл белка антигена.

Антитела к антигенам Л-форм определяли в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), модификация которой представлена в предыдущих публикациях [8]. Иммуная сыворотка кролика реагировала с тест-эритроцитами, сенсibilизированными растворимым антигеном Л-форм в титре $1/262$ 144.

Антигенсвязывающие розеткообразующие клетки (РОК) в крови животных выявляли согласно модифицированной методике, описанной ранее [4]. В качестве сенситина использовали растворимый антиген Л-форм стрептококка группы В. В контроле применяли эритроциты человека, сенсibilизированные бычьим сывороточным альбумином (БСА)—5 мг%.

Для заражения использовали белых беспородных крыс массой 100—120 г. Внутривентриально вводили 1,5 мл культуры Л-форм стрептококка группы В, содержащей 10^8 КОЕ/мл. Контрольную группу составили крысы, получавшие инъекцию среды культивирования. Взятие органов и крови производили через 24 часа после заражения, на 3, 7, 14, 30 и 45-е сутки и через 3 месяца.

Органы подопытных и контрольных животных в стерильных условиях гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера, предварительно суспендировав измельченный материал в растворе, содержащем 10 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂ и 0,25% тритона X-100, исходя из расчета: на 1 г ткани—1 мл раствора. После фильтрования и центрифугирования гомогената при 4000 об/мин в течение 15 мин супернатант исследовали в РАГА на присутствие антигенов Л-форм стрептококка группы В.

Статистическую обработку цифровых данных проводили по И. П. Ашмарину и А. А. Воробьеву [1].

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены результаты выявления антигенов Л-форм стрептококка группы В и антител к ним в крови экспериментально зараженных животных. В каждый из сроков брали по 5 опытных и 2 контрольные крысы и после постановки РАГА и РПГА вычисляли средние

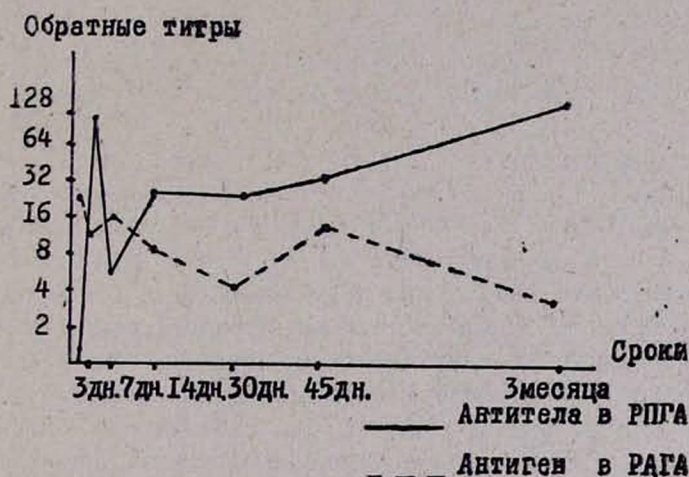


Рис. 1. Уровень антигенов Л-форм стрептококка группы В и антител к ним в циркуляторном русле крыс.

обратные титры агглютинации. Антиген Л-форм в крови появлялся через 24 часа после введения культуры и присутствовал в циркуляторном русле до 45-го дня исследований. За этот период дважды наблюдалось увеличение его уровня по сравнению с другими сроками на 7-и 45-й дни, к 3 месяцам после заражения уровень антигена Л-форм снижался. Характер выявления антигена Л-форм в крови свидетельствует, по всей вероятности, о периодическом его поступлении с постепенной элиминацией из организма.

В отношении антител к Л-формам отмечена следующая закономерность: повышение уровня антигена в крови сопровождалось понижением уровня антител к Л-формам, и, наоборот, понижение содержания антигенов влекло за собой повышение уровня антител к ним. Очевидно, при периодическом выбросе антигена из органов часть антител связывается с антигеном, образуя иммунные комплексы, вследствие чего ан-

титела не выявляются в РПГА. В контроле антиген Л-форм и антитела к нему не обнаружены.

Картину выявления антител в разные сроки у зараженных крыс дополнительно иллюстрирует определение процентного содержания в крови антигенсвязывающих РОК. В табл. 1 представлены результаты выявления антигенсвязывающих РОК. На 3 и 14-й дни после заражения содержание антигенсвязывающих РОК выше, чем в последующие сроки. К 7 и 30-му дням оно снижается ($16,6 \pm 1,3$ и $14,4 \pm 1,48\%$ соответственно). Так же как и антитела к Л-форме, антигенсвязывающие РОК выявляются вплоть до последнего срока исследований, и уровень их в крови косвенно свидетельствует о персистенции Л-форм стрептококка группы В в организме животных.

Таблица 1

Содержание антигенсвязывающих РОК в крови крыс в %

Крысы	Сроки исследования					
	3 дня	7 дней	14 дней	30 дней	45 дней	3 месяца
Опыт	$19,05 \pm 2,99$	$16,6 \pm 1,3$	$20,97 \pm 4,58$	$14,14 \pm 1,48$	$17,28 \pm 2,55$	$14,04 \pm 0,85$
Контроль	0,89	$0,25 \pm 0,35$	$0,55 \pm 0,05$	$0,97 \pm 0,54$	$0,28 \pm 0,48$	$0,465 \pm 1,75$

Анализ распределения антигена в организме крыс дал следующие результаты. Как видно из табл. 2, антиген Л-форм был выявлен в гомогенатах тимуса, селезенки и печени уже через 24 часа после введения культуры. В лимфатических узлах в этот период антиген был обнаружен лишь в следовых количествах, и только на 3-и сутки в них зарегистрирован высокий уровень антигена Л-форм. Следует отметить, что в тимусе антиген в последующие сроки почти не был выявлен, тогда как локализация его в лимфоузлах, печени и селезенке наблюдалась до 45-го дня после заражения. Характерной особенностью является то обстоятельство, что концентрация антигена в органах постепенно повышается и снижается, по всей вероятности, за счет репродукции персистирующих Л-форм и перераспределения антигена по мере поступления его в циркуляторное русло.

Проведенные исследования показали, что в гомогенатах сердца и легких антиген Л-форм стрептококка группы В был обнаружен только в следовых количествах в отдельные сроки, лишь в почках на 3 и 45-й дни после инфицирования удалось зарегистрировать невысокий уровень антигена (среднее значение титров составило $6,0 \pm 2,0$ и $8,2 \pm 3,57$).

Таким образом, исходя из полученных данных, можно заключить, что однократное внутрибрюшинное заражение Л-формой стрептококка группы В характеризуется у крыс волнообразным процессом накопления антигена в тканях лимфатических узлов, селезенки и печени. По всей вероятности, Л-формы депонируют в этих органах и, персистируя в них, обеспечивают последовательное поступление антигена в кровь. Высокий уровень антител к антигенам Л-форм и антигенсвязывающих РОК, который был отмечен до последнего срока эксперимента, также

Таблица 2

Выявление антигена Л-форм стрептококка группы В в органах крыс

Органы	Обратные титры антигена в РАГА по срокам							
	контроль	24 часа	3 дня	7 дней	14 дней	30 дней	45 дней	3 месяца
Кровь	0	$24 \pm 8,07$	$12,0 \pm 4,0$	$16,0 \pm 11,35$	$8,8 \pm 1,96$	$4,8 \pm 0,8$	$13,6 \pm 2,39$	$3,6 \pm 0,39$
Тимус	0	$18,0 \pm 14,04$	$6,0 \pm 2,0$	0	$1,6 \pm 1,62$	0	$3,2 \pm 0,5$	0
Лимф. узлы	$3,0 \pm 1,0$	$6,0 \pm 2,0$	$20,0 \pm 12,04$	$11,2 \pm 5,93$	$15,2 \pm 6,96$	$6,4 \pm 1,6$	$7,2 \pm 2,37$	$3,2 \pm 1,49$
Печень	$3,0 \pm 1,0$	$18,0 \pm 14,04$	$12,0 \pm 4,0$	$1,6 \pm 1,6$	$22,4 \pm 11,68$	0	$13,6 \pm 2,4$	$1,0 \pm 0,89$
Селезенка	$2,0 \pm 2,0$	$48,0 \pm 19,05$	$12,0 \pm 4,0$	$3,2 \pm 1,96$	$2,4 \pm 0,98$	0	$8,8 \pm 1,96$	$4,8 \pm 1,49$
Сердце	0	0	$3,0 \pm 1,0$	$1,6 \pm 1,6$	$3,2 \pm 3,19$	$1,6 \pm 0,98$	$5,6 \pm 1,6$	0
Почки	0	0	$6,0 \pm 2,0$	$1,6 \pm 1,6$	0	0	$8,2 \pm 3,57$	0
Легкие	0	0	0	0	0	0	$2,8 \pm 0,8$	0

свидетельствует о персистировании Л-форм стрептококка в организме животных.

Дальнейшие исследования по выявлению антигена Л-форм стрептококка группы В в органах инфицированных животных в более поздние сроки помогут детальнее выяснить картину персистенции Л-форм в организме.

Кафедра патологической анатомии Ереванского медицинского института

Поступила 6/IX 1984 г.

Լ. Գ. ԳՈՐԻՆԱ, Ս. Ս. ԳՈՆՉԱՐՈՎԱ, Ի. Վ. ԺԵՎԵՐՅԵՎԱ, Ն. Դ. ՎԱՐԴԱԶԱՐՅԱՆ

«В» խմբի ՍՏՐԵՊՏՈԿՈԿԻ Լ-ՁԵՎԵՐԻ ՊԵՐՍԻՍՏԵՆՑԻԱՅԻ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԸ ՓՈՐՁՆԱԿԱՆՈՐԵՆ ՎԱՐԱԿՎԱԾ ԿԵՆՒԱՆԻՇՆԵՐԻ ՄՈՏ

«В» խմբի ստրեպտոկոկի Լ-ձևերով միանվագ վարակված կենդանիների մոտ ուսումնասիրվել է պերսիստենցիայի երկարատևությունն արյան մեջ և լիմֆոիդ օրգաններում: Պարզվել է, որ Լ-ձևերի անտիգենը հայտնաբերվում է հիմնականում լիմֆոիդ օրգաններում (լիմֆատիկ հանգույցներ և փայծաղ) 3 ամսվա ընթացքում: Անտիգենի բնույթը վկայում է արյան շրջանառության մեջ նրա պարբերական թափանցման և օրգանիզմից աստիճանական էլիմինացիայի մասին:

Հետազոտման վերջին ժամկետներում արյան մեջ հակամարմինների և անտիգեն կապող պսակ առաջացնող լիմֆոցիտների ավելացումը հաստատում է այն ենթադրությունը, որ կենդանիների օրգանիզմում կա պերսիստենցիայի օջախ, որտեղ հավանաբար տեղի է ունենում միկրոբների ռեպրոդուկցիա և վերաբաշխում արյան շրջանառության մեջ նրանց հետագա թափանցումով:

L. G. GORINA, S. A. GONCHAROVA, I. V. ZHEVERZHEEVA, N. D. VARTAZARIAN

INDICES OF PERSISTENTION OF L-FORM OF THE «B» GROUP STREPTOCOCCUS IN EXPERIMENTALLY INFECTED ANIMALS

The study of the infectious process, caused by the L-form of the „B“ group streptococcus testifies to the formation in the organism the focus of persistention, where possibly the reproduction of the microorganisms and their redistribution take place.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ашмарин Н. П., Воробьев А. А. В кн.: Статистические методы в микробиологических исследованиях. М., 1962, стр. 243.
2. Горина Л. Г., Оловников А. М. Лаб. дело, 1975, 4, стр. 247.
3. Горина Л. Г., Жевержеева И. В., Гончарова С. А. Лаб. дело, 1981, 11, стр. 686.
4. Горина Л. Г., Раковская И. В. Методические рекомендации по выявлению антиген-связывающих лимфоцитов у мышей, инфицированных M. arthritidis. М., 1983.
5. Лемперт Б. А., Барановская Н. Г., Бабаева А. Р. и др. В кн.: Стрептококковая инфекция и ревматизм. Саратов, 1982, стр. 45.
6. Тимаков В. Д., Каган Г. Я. В кн.: Л-формы бактерий и семейство Mycoplasmatocaeae в патологии. М., 1973, стр. 128.
7. Чумаченко Н. В., Смирнова Т. Д. Лаб. дело, 1974, 1, стр. 39.

8. Чумаченко Н. В., Гончарова С. А. Лаб. дело, 1973, 11, стр. 681.
9. Dahlender K., Christensen K., Christensen P. In: Streptococci and treptococcal Diseases, Lund, 1981, 127.
10. Mayor-White R. T. Ibid., 136.
11. Lempert B. A., Baboeva A. R. et al. In: Abstract from European congress of rheumatology, 1983, M., 1983, стр. 43.
12. Zukradnichy L. In: Streptococci and Streptococcal Diseases, Lund, 1981, 130.

УДК 616.5—001—056.3

Б. Е. БАГРАТУНИ, В. Ю. КОГАН, К. О. ГАБРИЕЛЯН

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГИСТАМИН—ГИСТАМИНАЗА ПРИ КОНТАКТНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕРМАТИТЕ

Изучено содержание гистамина в различных тканях организма животных в процессе воспроизведения у них контактного аллергического дерматита. Результаты исследований могут быть учтены при разработке мер профилактики и методов лечения.

В настоящее время профессиональные дерматозы составляют примерно 1/3 всей профессиональной патологии. В связи с этим проблема профессиональных заболеваний кожи является чрезвычайно важной.

В сложном комплексе патогенетических факторов, связанных с развитием профессиональных заболеваний кожи, значительное место принадлежит аллергическим процессам. Одной из фаз аллергического процесса является патохимическая стадия, которая характеризуется высвобождением избыточных количеств биологически активных веществ: серотонина, катехоламинов, гистамина, гепарина, ацетилхолина и других.

В связи с этим целью настоящей работы было изучение функционального состояния системы гистамин—гистаминаза при контактном аллергическом дерматите, вызванном солями молибдена.

Материал и методы

Опыты выполнены на 94 беспородных морских свинках-самцах массой 300—400 г. Экспериментальный контактный аллергический дерматит воспроизводился методом А. С. Рабена и О. Г. Алексеевой [6] в нашей модификации путем аппликации раствора соли молибдена на кожу, обработанную раствором 0,5 % NaOH. Гистамин определялся методом Rosenthal, Tabor [8] с экстракцией бутанолом по Mc Intire et al., активность гистаминазы—методом Е. Е. Горяченко и др. [4]. Исследования проводились в тканях мозга (гипоталамусе, коре лобных долей), печени, миокарде и в крови в трех группах животных: интактной, контрольной с аппликацией только 0,5% раствора NaOH и опытной с аппликацией 20% раствора молибдата аммония на фоне предварительно нанесенного 0,5% раствора NaOH.