

В. А. ШЕКОЯН, А. В. ЗИЛЬФЯН, В. С. ТОВМАСЯН, Р. А. МАНУКЯН,  
Н. П. БАБАЯН, К. Г. ПЕТРОСЯН

## ВЛИЯНИЕ ГАМК, ГОМК И ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Изучено влияние нейрoактивных аминокислот (ГАМК, ГОМК и глутаминовой кислоты) на функциональную активность моноцитов и нейтрофильных лейкоцитов периферической крови. Показано повышение проницаемости мембран лизосом и изменение активности кислой фосфатазы под влиянием нейрoактивных аминокислот.

За последние годы проводится интенсивное изучение роли нейрoактивных аминокислот в иммунологических процессах.

Полученные нами данные о влиянии гамма-аминокисляной (ГАМК), гамма-оксимасляной (ГОМК) и глутаминовой кислот на количество антителообразующих, розеткообразующих клеток и другие показатели иммунитета [1, 2, 3], а также имеющиеся в литературе сведения [4, 5], указывающие на роль медиаторных аминокислот в иммунологических процессах, послужили основой для изучения влияния нейрoактивных аминокислот на функциональную активность фагоцитов периферической крови.

### Материал и методы

Опыты проводились в двух сериях: в I серии на интактных мышах изучалось влияние нейрoактивных аминокислот на функциональное состояние моноцитов и нейтрофилов крови. Во II серии влияние тех же веществ на состояние фагоцитов изучалось на фоне предварительной иммунизации животных. Опыты были проведены на 48 белых мышах массой 18—20 г. ГАМК, ГОМК и глутаминовую кислоту вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг в течение 5 дней (дважды в день). Иммунизацию проводили 5% взвесью эритроцитов барана в количестве 1 мл на 3-й день после введения препарата. Контрольную группу составляли интактные мыши, получавшие физиологический раствор (контроль I), и животные, получавшие физиологический раствор и иммунизированные эритроциты барана (контроль II).

Мазки, приготовленные из крови контрольных и опытных групп обеих серий, окрашивали по Гимзе-Романовскому. Активность кислой фосфатазы определяли на микрофотометре при длине волны 550 мкм в 50 фагоцитах крови (моноцитах и нейтрофильных лейкоцитах) в каждом конкретном случае (у одного животного). Проницаемость лизосомальных мембран моноцитов и нейтрофильных лейкоцитов оценивали с помощью их прижизненного флюорохромирования акридиновым оранжевым (АО) по А. С. Головацкому [6]. Флюорохромирование АО позволяет проследить во времени динамику изменений типичных свойств органелл клетки, их функционального состояния (проницаемости). Концентрация АО составила 250 мкг/мл.

## Результаты и обсуждение

Результаты количественного гистохимического анализа кислой фосфатазы в клетках крови приведены в табл. 1. Как видно из таблицы, введение интактным животным (I серия) нейроактивных аминокислот сопровождалось существенными сдвигами активности кислой фосфатазы в моноцитах и нейтрофильных лейкоцитах. Необходимо отметить, что изменение активности в изученных группах носило разнонаправленный характер. Так, в условиях введения ГАМК активность фермента в моноцитах и лейкоцитах крови повышалась по сравнению с контрольной группой в 1,7 раза, при введении же ГОМК происходило достоверное снижение активности кислой фосфатазы лишь в моноцитах. Показатели активности фермента при введении интактным мышам глутаминовой кислоты не отличались от таковых контрольной группы.

Изучение влияния биологически активных веществ на фоне предварительной иммунизации эритроцитами барана во всех опытных группах II серии выявило существенное понижение активности кислой фосфатазы в нейтрофильных лейкоцитах. Относительно низкие показатели активности в изучаемых клетках крови были зарегистрированы при введении ГОМК и глутаминовой кислоты, которые были ниже соответственно в 2 и 1,4 раза контрольного уровня. Активность изучаемого фермента в моноцитах крови опытных групп II серии не отличалась от таковой в контроле, за исключением группы, в которой на фоне иммунизации вводили ГОМК, где содержание кислой фосфатазы понижалось почти в 2 раза.

В серии проведенных цитологических исследований было установлено, что нейроактивные аминокислоты в испытуемых дозах не вызывают в клетках фагоцитарного ряда (моноциты и нейтрофильные лейкоциты) дистрофических и деструктивных изменений. Так, ни в одной изучаемой группе I серии не было выявлено признаков распада, фрагментации и лизиса цитоплазмической и ядерной мембран, пикноза и рексиса ядер. В то же время в группах, где вводили ГАМК и ГОМК, ядра моноцитов выглядели гипертрофированными и гипохромными, цитоплазма—умеренно вакуолизированной. Не исключено, что нейроактивные аминокислоты в биологически допустимых дозах не оказывают цитотоксического влияния на моноциты и нейтрофильные лейкоциты в крови интактных мышей. Однако существенные сдвиги в активности основного маркера лизосом—кислой фосфатазы наводят нас на мысль, что изучаемые биологически активные вещества, не оказывая непосредственного «токсического» действия на клеточную мембрану, вызывают все-таки дестабилизацию внутриклеточных мембранных структур, и, в первую очередь, лизосомальных. Принимая во внимание то обстоятельство, что активность лизосомальных ферментов во многом зависит от функционального состояния мембран, а точнее—от степени её проницаемости, мы провели специальную серию экспериментов по изучению проницаемости лизосомальных мембран при помощи прижизненного флюорохромирования моноцитов и лейкоцитов крови акридиновым оранжевым.

Активность кислой фосфатазы в фагоцитах крови в условиях введения мышам нейрoактивных аминокислот

| Исследуемые клетки | Г р у п п ы   ж и в о т н ы х |                            |                           |                           |                             |                           |                            |                           |
|--------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                    | I серия (интактные)           |                            |                           |                           | II серия (иммунизированные) |                           |                            |                           |
|                    | к нтр. I                      | ГАМК                       | ГОМК                      | Глут. к-та                | контр. II                   | ГАМК                      | ГОМК                       | Глут. к-та                |
| Моноциты           | $30,8 \pm 1,5$                | $53,8 \pm 1,4$<br>$t=11,2$ | $21,7 \pm 1,1$<br>$t=4,9$ | $35,6 \pm 1,8$<br>$t=1,7$ | $70,0 \pm 3,8$              | $63,6 \pm 3,3$<br>$t=1,3$ | $38,0 \pm 1,7$<br>$t=7,7$  | $62,6 \pm 2,0$<br>$t=1,7$ |
| Лейкоциты          | $28,2 \pm 1,2$                | $48,9 \pm 0,8$<br>$t=13,8$ | $26,0 \pm 1,2$<br>$t=1,3$ | $28,8 \pm 1,1$<br>$t=0,3$ | $75,7 \pm 2,3$              | $57,5 \pm 4,0$<br>$t=3,9$ | $38,2 \pm 1,6$<br>$t=13,2$ | $52,8 \pm 1,3$<br>$t=8,6$ |

Таблица 2

Показатели проницаемости лизосомальных мембран фагоцитов крови для токсического красителя у контрольных животных при введении нейрoактивных аминокислот

| Исследуемые клетки | Г р у п п ы   ж и в о т н ы х |                |                            |                            |                            |                            |                           |                            |
|--------------------|-------------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
|                    | Контр. I (интакт.)            |                | ГАМК                       |                            | ГОМК                       |                            | Глут. кислота             |                            |
|                    | T 1/2                         | зел. флюор.    | T 1/2                      | зел. флюор.                | T 1/2                      | зел. флюор.                | T 1/2                     | зел. флюоресц.             |
| Моноциты           | $47,1 \pm 0,7$                | $52,7 \pm 0,7$ | $36,6 \pm 0,7$<br>$t=10,9$ | $38,1 \pm 1,2$<br>$t=10,3$ | $29,9 \pm 1,0$<br>$t=10,1$ | $30,1 \pm 0,8$<br>$t=20,0$ | $37,0 \pm 1,0$<br>$t=8,4$ | $37,6 \pm 1,0$<br>$t=13,0$ |
| Лейкоциты          | $40,5 \pm 0,6$                | $54,5 \pm 0,6$ | $37,5 \pm 0,9$<br>$t=2,9$  | $35,5 \pm 0,9$<br>$t=17,9$ | $35,5 \pm 0,7$<br>$t=10,5$ | $26,6 \pm 0,5$<br>$t=22,3$ | $35,6 \pm 0,3$<br>$t=9,0$ | $33,6 \pm 0,4$<br>$t=19,0$ |

Таблица 3

Показатели проницаемости лизосомальных мембран фагоцитов крови для токсического красителя у иммунизированных животных при введении нейрoактивных аминокислот

| Исследуемые клетки | Г р у п п ы   ж и в о т н ы х |                 |                            |                            |                            |                            |                           |                            |
|--------------------|-------------------------------|-----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
|                    | Контроль II (иммуниз.)        |                 | ГОМК+иммуниз.              |                            | ГАМК+иммуниз.              |                            | Глут. кислота+иммуниз.    |                            |
|                    | T 1/2                         | зел. флюор.     | T 1/2                      | зел. флюор.                | T 1/2                      | зел. флюор.                | T 1/2                     | зел. флюор.                |
| Моноциты           | $37,7 \pm 0,5$                | $37,3 \pm 0,76$ | $17,9 \pm 7,3$<br>$t=7,5$  | $20,6 \pm 1,1$<br>$t=9,7$  | $31,1 \pm 0,5$<br>$t=7,0$  | $40,5 \pm 1,0$<br>$t=3,0$  | $23,3 \pm 1,1$<br>$t=7,0$ | $33,5 \pm 1,2$<br>$t=1,3$  |
| Лейкоциты          | $35,0 \pm 0,7$                | $36,6 \pm 0,85$ | $21,0 \pm 0,9$<br>$t=12,0$ | $19,6 \pm 0,7$<br>$t=10,4$ | $23,3 \pm 0,6$<br>$t=19,0$ | $24,3 \pm 0,8$<br>$t=11,0$ | $28,2 \pm 0,8$<br>$t=6,0$ | $23,5 \pm 0,8$<br>$t=11,0$ |

Результаты исследований с применением АО показали, что изменение тинкториальных свойств клеток-мишеней наблюдалось при введении в организм мышей всех исследуемых нейроактивных аминокислот. Как видно из табл. 2, при введении ГАМК, ГОМК и глутаминовой кислоты период полураспада ( $T_{1/2}$ ) заметно сокращается, а при экспозиции  $T_{1/2}$ , в течение которого происходит поэтапное изменение тинкториальных свойств составных компонентов клеток (цитоплазма, ядро, участки локализации лизосом), количество моноцитов и нейтрофильных лейкоцитов с зеленой флюоресценцией ядер в опытных группах I серии достоверно снижалось. Аналогичная направленность четко прослеживалась во всех опытных группах II серии.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что в условиях *in vivo* нейроактивные аминокислоты оказывают существенное влияние на активность кислой фосфатазы в моноцитах и нейтрофильных лейкоцитах крови. Особо следует отметить, что полученный эффект в группах введения ГАМК и ГОМК был диаметрально противоположным: этот факт прослеживается наиболее четко в тех случаях, когда в качестве объекта изучения активности кислой фосфатазы выступали моноциты крови. Введение же ГАМК и глутаминовой кислоты на фоне предварительной иммунизации не отражалось на активности кислой фосфатазы в моноцитах крови, в то время как в нейтрофильных лейкоцитах все изучаемые нами нейроактивные аминокислоты вызывали достоверное понижение активности фермента.

Эксперименты с применением в качестве индикатора проницаемости мизосомальных мембран АО показали, что нейроактивные аминокислоты, не обладая цитодеструктивным действием на клетки-мишени (моноциты и нейтрофильные лейкоциты), вызывают дестабилизацию лизосомальных мембран, направленную в сторону увеличения их проницаемости. Сопоставление показателей проницаемости лизосомальных мембран животных I и II серий (табл. 2, 3) показывает, что для повышения проницаемости под влиянием нейроактивных аминокислот формирование гуморального иммунитета является условием необязательным.

Таким образом, нейроактивные аминокислоты оказывают в условиях *in vivo* избирательное влияние на морфофункциональное состояние лизосомального аппарата фагоцитов крови (моноциты и нейтрофильные лейкоциты). Это подтверждается полученными данными о проницаемости лизосомальных мембран в отношении токсического красителя и количественного определения активности основного маркера лизосом — кислой фосфатазы.

**ԳԱԿՔ-Ի, ԳՕԿՔ-Ի ԵՎ ԳԼՅՈՒՏԱՄԻՆԱԹՔՎԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ՄԱՅՐԱՄԱՍԱՅԻՆ ԱՐՅԱՆ ՖԱԳՈՑԻՏՆԵՐԻ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ  
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ**

Ուսումնասիրված է նեյրոակտիվ ամինաթթուների (ԳԱԿՔ, ԳՕԿՔ և գլու-  
տամինաթթու) ազդեցությունը ծայրամասային արյան նեյտրոֆիլ-լեյկո-  
ցիտների ֆունկցիոնալ ակտիվության վրա: Բացահայտվել է լիզոսոմալ Թա-  
դանթների Թափանցելիության և թթու ֆոսֆատազի ակտիվության փոփոխու-  
թյուն՝ նեյրոակտիվ ամինաթթուների ազդեցության տակ:

V. A. SHEKOYAN, A. V. ZILFIAN, V. S. TOVMASSIAN, R. A. MANOUKIAN,  
N. P. BABAYAN, K. G. PETROSSIAN

**THE EFFECT OF GAMA, GOMA AND GLUTAMINIC ACID ON THE  
FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE PERIPHERIC BLOOD  
PHAGOCYTES**

The effect of neuroactive amino acids (GAMA, GOMA and gluta-  
minic acid) on the functional activity of monocytes and neutrophilic leu-  
kocytes has been investigated. The increase of the membranes', perme-  
ability by lysos and the change of the activity of acid phosphatase under  
the influence of neuroactive amino acids are established.

**Л И Т Е Р А Т У Р А**

1. Шекоян В. А., Франгулян Л. А. и др. Ж. exper. и клин. мед. АН АрмССР, 1985, 6, с. 556.
2. Франгулян Л. А., Шекоян В. А., Товмасын В. С. Биол. ж. Армении, 1987, 40, 2, с. 158.
3. Азнаурян А. В., Шекоян В. А. и др. В кн.: Нейрогуморальная регуляция иммунного гомеостаза. Л., 1986, с. 93.
4. Сипливая Л. Е., Прокопенко Л. Г. В кн.: Нейрогуморальная регуляция иммунного гомеостаза. Л., 1986, с. 119.
5. Морозов К. И. Бюл. exper. биол. и мед., 1980, 4, с. 7.
6. Головацкий А. С. Цитол., 1979, 21, 4, с. 480.

УДК 612.017—097

Л. С. ГРИГОРЯН

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ  
ПЕРОКСИДИРОВАННОЙ ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ**

Изучено влияние пероксидированной олеиновой кислоты на показатели Т- и В-системы иммунитета и факторы естественной резистентности организма. Показано нарушение иммунной реактивности организма: супрессия параметров Т- и В-систем иммунитета, стимуляция некоторых показателей естественной резистентности орга-  
низма.

В настоящее время известна роль повышенной липопероксидации в генезе ряда заболеваний и патологических состояний организма [1,