

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ім. О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

На правах рукопису

ГОНЧАР Ольга Олександрівна

**ВПЛИВ ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ
НА ФОРМУВАННЯ РЕАКЦІЙ
ГРАНУЛОЦИТАРНОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ
ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

03.00.13 - фізіологія людини і тварин

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1995

АВ 33.632

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Луганському державному педагогічному інституті ім. Т. Г. Шевченка.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Луніна Неллі Василівна

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Косенко Аватолій Федорович
доктор медичних наук, професор
Середенко Михайло Михайлович

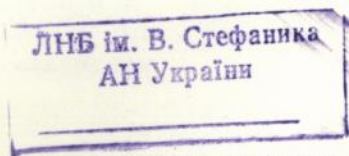
Провідна установа: НДІ ендокринології та обміну речовин
МОЗ України

Захист відбудеться 16 листопада 1996 р. о 14⁰⁰ год.
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д-01.13.01 при Інституті фізіології
ім. О. О. Богомольця НАН України за адресою: 252024, м. Київ,
вул. Богомольця, 4.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця.

Автореферат розісланий 20 листопада 1995 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор біологічних наук



З. О. СОРОКІНА-МАРИНА

ЛНБ України ім. В. Стефаника



00754963 (Y)

AB - 33.652

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. У формуванні стрес-синдрому значну роль відіграє система крові, неспецифічні реакції якої знаходять відбиття в розвитку нейтрофільного лейкоцитозу, лімфо- і еозинопенії, міграції лімфоцитів у кістковий мозок, підсиленні проліферації гранулоцитарного паростка, активації гемостатичних реакцій (Горизонтов, 1981; Горизонтов с соавт., 1983; Гольдберг с соавт., 1990; Сидельникова, Лифшиц, 1992; Селье, 1960; Chikarra e.a., 1977; Mosher, 1990).

Останнім часом нейтрофільні лейкоцити розглядають як один із універсальних механізмів гомеостазу, що забезпечує більш ранню відповідну реакцію на будь-які зміни організму (Маянский, Маянский, 1983; Маянский, Галиуллин, 1984; Бахов с соавт., 1988; Vogtegard, 1988).

У реалізації ефекторного потенціалу нейтрофілів значна роль належить їх лізосомальному апарату, який містить багатий набір ферментів, катіонних білків та інших речовин зі широким спектром біологічного впливу (Покровский, Тутельян, 1976; Коровкин, 1982; Тутельян, Васильев, 1990). Лізосомальні ферменти обумовлюють зв'язок нейтрофільних лейкоцитів із калікреїн-кініновою системою та системою комплементу (Маянский, Маянский, 1983; Movat e.a., 1976), кооперацію з тучними клітинами і тромбоцитами (Маянская, Панин, 1990). Активуючи фактор Хагемана, лізосомальні ферменти нейтрофілів індуктують процеси зсідання, фібринолізу, кініногенезу (Чернух, Гомазков, 1976; Маянский, 1989; Kuwahara, 1980).

Ряд авторів розвиток нейтрофіліозу та активацію гранулоцитопоезу пов'язує з участю нейтрофільних лейкоцитів у фагоцитарних реакціях при запаленні чи пошкодженні тканин (Пигаревский, 1978; Струков, 1980; Адо, Маянский, 1983; Бала с соавт., 1991).

Що ж стосується біологічної ролі нейтрофільного лейкоцитозу в екстремальних умовах, не пов'язаних з інфекцією та запаленням, то вона в значній мірі залишалася невідомою.

В роботах нашої лабораторії було здійснено принципово новий підхід до проблеми участі нейтрофілів в адаптації. Так, була висунута гіпотеза, що за умов дії стресорів неінфекційної природи розвиток нейтрофільного лейкоцитозу обумовлений

участю лізосомальних ферментів нейтрофілів у гуморальній регуляції функцій організму (Лунина, Козюк, 1978).

Подальші дослідження показали, що під час дії на організм факторів різноманітної природи - крововтрати (Скрипка, 1983), фізичного навантаження (Шинкарев, 1983), вагітності та пологів (Лунина, Коваль, 1983), зниженого барометричного тиску (Лунина, Полтавський, 1984), іммобілізації (Лунина, Абакумова, 1991), розвиток нейтрофільного лейкоцитозу супроводжується зменшенням кількості лізосом та гранул катіонних білків у нейтрофільних лейкоцитах.

Внаслідок того, що активація лізосомального апарату нейтрофілів не залежить від природи стресора і носить дозозалежний характер, було зроблено висновок про неспецифічність даної реакції в процесі розвитку нейтрофільного лейкоцитозу.

Лізосомальні ферменти, що вивільняються в кров шляхом екзоцитозу (Коваль с соавт., 1983), активують фактор XII і залежні від нього процеси зсідання, фібринолізу, кініногенезу й таким чином беруть участь в адаптивно-відновних реакціях організму (Лунина, Полтавський, 1984; Агафонова, Лунина, 1987; Лунина, Абакумова, 1991).

Дослідами *in vitro* доведений переважно активуючий вплив на фактор Хагемана лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів у порівнянні з лізосомальними ферментами інших клітин (Лунина, Коваль, 1983). Виявлена участь у цих процесах симпатичної нервової системи та гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної (Лунина, Вовк, 1992; Лунина, Чехов, 1992).

Згідно з сучасними уявленнями, формування стрес-реакції розглядається як складний комплекс нейро-гормональних процесів, спрямованих на відновлення та підтримку гомеостазу (Горизонтов, 1981; Середенко, 1984; Робу, 1989; Селье, 1971; Armano e.a., 1985). Значну роль у розвитку адапційного синдрому відіграє функціональний стан щитовидної залози (Фурдуй с соавт., 1978; Эверли, Розенфельд, 1985; Фурдуй, 1986; Levi, 1972). Впливаючи на хід обмінних та метаболічних процесів, як на рівні цілісного організму, так і субклітинному (Рачев, Ещенко, 1975; Hulbert, 1978; Oppenheimer, Samuels, 1983; Теппермен, Теппермен, 1989), тироїдні гормони забезпечують ефективність механізмів термінової та довгочасної адаптації при дії стрес-факторів.

Встановлена рядом авторів (Holm e.a., 1975; Lemarchand - Beraud e.a., 1977) висока спорідненість тироїдних гормонів щодо лейкоцитів периферичної крові дозволяє припустити вплив гормонів щитовидної залози на функціональний стан нейтрофільних лейкоцитів, а також можливу участь у розвитку гранулоцитарних реакцій за умов дії на організм надзвичайних подразників.

Що ж стосується функціонального взаємозв'язку тироїдних гормонів та лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів, ферменти якого беруть участь у компенсаторно-відновних процесах при стресі, то це питання в літературі не обговорювалося.

Мета та задачі дослідження. У зв'язку з вищевикладеним, метою даної роботи стало вивчення впливу тироїдних гормонів на реакцію лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові за умов іммобілізаційного стресу.

В завдання роботи входило: вивчити під час дії 12-годинної іммобілізації в умовах нестачі та надміру тироїдних гормонів кількісні зміни нейтрофільних лейкоцитів у периферичній крові, гранулоцитопоез, адгезивні властивості лейкоцитів крові, вміст лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків у циркулюючих нейтрофілах, активність маркерного лізосомального ферменту кислій фосфатази у сироватці крові, функціональний стан систем крові, залежних від фактору Хагемана - зсідаючої, фібринолітичної, калікреїн-кінінової.

Наукова новизна роботи. Вперше на рівні цілісного організму досліджена роль тироїдних гормонів у реакціях гранулоцитарної системи при формуванні стрес-синдрому.

Доведено, що за умов іммобілізації гормони щитовидної залози впливають на активність гранулоцитопоезу, інтенсивність та тривалість нейтрофільного лейкоцитозу, змінюють функціональну активність лізосомального апарату нейтрофілів. Встановлена залежність рівня секреторної дегрануляції циркулюючих нейтрофілів від концентрації тироїдних гормонів у крові.

Доведено, що за умов гіпотиреозу та тиреотоксикозу постіммобілізаційна активність зсідаючої, фібринолітичної, кінінової систем крові корелювала з вмістом дегранульованих

та декатіонізованих нейтрофілів, активністю лізосомальних ферментів у сироватці крові. Таким чином, показано, що під час розвитку стрес-реакції тиреоїдні гормони беруть участь у регуляції гуморальних функцій організму, при цьому їх ефект реалізується через активацію лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів, підвищення концентрації лізосомальних ферментів, що обумовлює активацію фактора Хагемана.

Виявлено, що за умов дисбалансу гормонів щитовидної залози дія стресорних факторів послаблює адаптаційні реакції нейтрофільних лейкоцитів, що дає змогу вважати тиреоїдні гормони необхідним компонентом формування стрес-синдрому.

Науково-практична цінність роботи. Результати досліджень мають певне теоретичне значення, оскільки розкривають деякі шляхи впливу тиреоїдних гормонів на розвиток нейтрофільного лейкоцитозу та стан лізосомального апарату нейтрофілів за умов дії надзвичайного подразника. Вони мають стати основою для подальшої розробки питання про реалізацію біологічної активності нейтрофільних лейкоцитів у крові при формуванні стрес-реакції та проблеми неспецифічних гуморальних механізмів адаптації. Одержані дані дають пояснення деяким змінам у стані систем крові при різних тиреоїдних патологіях, фармакологічному застосуванні препаратів щитовидної залози, тиреостатиків та інших речовин, що впливають на функцію тиреоїдної залози.

Практична цінність роботи полягає в тому, що результати досліджень можуть бути використані для розробки методів фармакологічної корекції вмісту лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів у крові за умов дисфункції щитовидної залози при дії стрес-факторів, що дозволить активно впливати на стан гуморальних гомеостатичних систем крові.

Апробація роботи. Наслідки роботи доповідалися на щорічних наукових конференціях Луганського педінституту у 1993-1995 рр., 3-й регіональній науково-практичній конференції молодих вчених «Екологія промислового регіона Донбасса» (Луганськ, 1993), XIV з'їзді Українського фізіологічного товариства ім. І. П. Павлова (Київ, 1994), звітній науково-технічній конференції Луганського сільськогосподарського інституту

(Луганськ, 1995), Всеукраїнському науковому симпозіумі «Особливості формування та становлення психофізіологічних функцій в онтогенезі» (Київ-Черкаси, 1995).

Публікації. За матеріалами дослідження надруковано 8 робіт, із них 4 статті та 4 роботи в тезах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, чотирьох глав власних досліджень, обговорення одержаних даних, висновків та списку літератури. Загальний об'єм - 167 сторінок машинописного тексту, з них власно тексту 135 сторінок, включаючи 21 таблицю та 16 малюнків. Список літератури вміщує 310 джерел, у тому числі 130 іноземних.

Основні положення роботи, запропоновані до захисту:

1. При іммобілізаційному стресі тиреоїдні гормони впливають на стан гранулоцитарної системи, а саме активність мієлопоезу, інтенсивність та тривалість нейтрофільного лейкоцитозу.

2. В умовах дисбалансу гормонів щитовидної залози нейтрофіліоз супроводжується зменшенням кількості лізосом і гранул лізосомальних катіонних білків у циркулюючих нейтрофілах. Концентрація тиреоїдних гормонів у крові визначає рівень секреторної дегрануляції нейтрофілів.

3. При стресі в умовах нестачі та надміру тиреоїдних гормонів активність Хагеман-залежних систем крові залежить від кількості лізосомальних ферментів у плазмі.

4. При формуванні адаптаційного синдрому тиреоїдні гормони беруть участь у регуляції гуморальних функцій організму через активацію лізосомального апарату нейтрофілів та фактора Хагемана.

МЕТОДИКА ТА ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експерименти проведені на 108 кролях-самцях, статевозрілих, безпородних, масою 2,5 - 3,5 кг.

Піддослідні тварини були поділені на 3 групи. Першу, контрольну, становили 28 інтактних кролів. Друга, дослідна група, складалася з 42 кролів, у яких викликали нестачу тиреоїдних гормонів у крові. Третю, дослідну групу, становили 38 кролів, з надміром гормонів щитовидної залози у крові.

Стресором для тварин усіх груп стала 12-годинна іммобілізація в положенні на спині.

Пригнічення функції тироїдної системи створювали пероральним введенням мерказолілу кожен добу протягом 4 тижнів. Тиреоїдний токсикоз викликали введенням суспензії тиреоїдину в зростаючих дозах протягом 30 діб (Гольбер, Кандрор, 1972). Концентрацію гормонів (тироксину, трийодтироніну) у сироватці крові визначали радіоімунологічним методом за допомогою стандартних наборів реактивів РІА - Т - ПГ, РІА - Т - ПГ (Мінськ).

Гривалість усіх спостережень визначалася часом відновлення повного набору лізосом у нейтрофілах кролів контрольної групи, що становило 16 діб.

У всіх тварин вивчали такі показники: кількість лейкоцитів в одиниці об'єму крові, відносний та абсолютний вміст нейтрофільних лейкоцитів в одиниці об'єму крові; у кістковому мозку - кількість міелокаріоцитів в одиниці об'єму кістково-мозкової тканини, абсолютну кількість гранулоцитів, у складі яких диференціювали клітини дозріваючого та проліферуючого пулів (Меньшиков, 1987), адгезивні властивості лейкоцитів (Сукач, 1988).

Для характеристики змін лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів вивчали: у нейтрофілах - вміст лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків, у сироватці крові - активність маркерного лізосомального ферменту кислій фосфатази.

Лізосоми фарбували барвником Мая-Грюнвальда (Меньшиков, 1987), лізосомальні катіонні білки - барвником «світловий зелений» (Лунина, Коваль, 1983). Лізосоми та гранули катіонних білків визначали за допомогою світлового мікроскопа.

Активність лізосомальної кислій фосфатази вивчали за методом Боданського (Покровский, 1969).

Про участь лізосомальних ферментів нейтрофільних лейкоцитів у гуморальній регуляції функцій організму судили за їх впливом на системи крові, які залежать від фактору Хагемана - зсідаючу, фібринолітичну, калікреїн-кінінову.

Стан зсідаючої системи крові оцінювали за зміною тромбінового, протромбінового, кефалін-каолінового, силіконового

часу плазми (Балуда, 1980), кількості фібриногену (Кост, 1969).

Активність фібринолітичної системи крові визначали за тривалістю фібринолізу, що залежить від фактору Хагемана (Скипетров, Булочникова, 1987).

Про зміни функціонального стану каллікреїн-кінінової системи крові судили за скороченням протромбінового часу зсідання плазми до та після холододового впливу в тесті «холодова активація каллікреїнового мосту» (Балуда, 1980).

Результати експериментів опрацьовано статистично за методом прямих різниць (Монцевичюте-Эрингене, 1964).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На основі проведених досліджень встановлено, що порушення гормонального статусу організму, обумовлене введенням мерказолілу, призводило до розвитку в периферичній крові нейтрофілопенії, що можна пояснити змінами клітинного складу гранулоцитарного паростка кісткового мозку: зменшенням числа клітин дозріваючого і проліферуючого пулів.

Пригніченню гранулоцитопоезу у цих умовах, поряд з безпосереднім впливом дефіциту тиреоїдних гормонів на процеси росту, поділу, диференціації клітин, сприяє й мієлотоксичний ефект мерказолілу. Згідно з даними літератури (Старкова, 1989), тиреостатичні препарати викликають ураження засновних елементів кровоутворення, але в першу чергу мієлопоезу, що пояснюється функціональними особливостями зернистих лейкоцитів - короткочасністю їх перебування в циркуляції, при порівняно повільному темпі гранулопоезу (Кассирский, Алексеев, 1970; Истманова с соавт., 1973).

На відміну від інтактних тварин, у крові яких нейтрофіли містили більш 30 лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків, у тварин з нестачею тиреоїдних гормонів диференціювали частково та значно дегранульовані та декатіонізовані нейтрофіли. Лише 29% нейтрофілів у циркуляції зберігали нормальну лізосомально-катіонну формулу. У сироватці крові цих тварин фіксували підвищення активності лізосомального ферменту кислої фосфатази, яка в інтактних тварин у звичайному стані не визначалася.

Вивільнення гідролітичних ферментів із лізосом нейтрофілів

визначається мірою підвищення проникливості лізосомальних мембран (Панин, 1983). В умовах нестачі гормонів щитовидної залози порушенню цілісності мембранних структур сприяє ряд факторів, до яких в першу чергу можна віднести модифікацію фосфоліпідного складу плазматичних мембран, обумовлену змінами у співвідношенні жирних кислот, триацилгліцеридів, ліпопротеїдів, холестерина (Туракулов, 1980; Прошина с соавт., 1982; Никитин, Бабенко, 1989; Dogu e.a., 1981; Schjeide e. a., 1986), а також інтенсифікацію процесів вільно-радикального окислення (Ром-Бугославская с соавт., 1994).

Відомо, що тиреоїдні гормони належать до антиоксидантів токоферольного типу (Владимиров, Арчаков, 1972; Wynn, 1968). Зменшення їх вмісту в крові, зниження активності ферментних антиоксидантних систем призводить до активації перекисного окислення ліпідів (Марзоев с соавт., 1985; Зелинская, 1989). Ці, а також багаточисленні метаболічні та нейроендокринні зміни, що супроводжують гіпотиреоз (тканева гіпоксія, зниження тону симпатичної нервової системи, підвищення рівня катехоламінів, корково-надниркова недостатність, зниження рівня цАМФ у клітині) (Гольбер с соавт., 1978; Потемкин, 1984; Балаболкин, 1989; Саатов с соавт., 1990), напевно, також призводять до лабілізації мембран та виходу їх гідролітичних ферментів у кров.

Питання, що стосуються змін лейкоергичних властивостей лейкоцитів при тиреоїдній патології, в літературі не обговорювалися. Оскільки характер адгезії залежить від стану клітинних мембран й модулюється циклічними нуклеотідами (Маянский, Галиуллин, 1984; Пальцын, 1988), зниження метаболічних та обмінних процесів на рівні клітинних мембран при гіпотиреозі (Рачев, Ещенко, 1975), а також наведені вище зміни, можливо, сприяють зниженню адгезивних властивостей лейкоцитів у цих тварин.

За умов дефіциту тиреоїдних гормонів в організмі відбуваються гіперкоагуляційні зрушення у зсідуючій системі крові, активація калікреїн-кінінової системи, підвищення активності фібринолізу, залежного від фактору Хагемана. Результати наших досліджень підтверджуютья даними літератури, які свідчать, що такі зміни у системі гемостазу в умовах тиреоїдної

недостатності обумовлені підсиленням активності прокоагулянтів, пригніченням протизсідуючих факторів, зниженням рівня гепарину в крові (Кудряшов с соавт., 1968; Савенков, 1970; Сергеев с соавт., 1974; Выговский с соавт., 1980; Васюкова с соавт., 1981).

В умовах надміру тиреоїдних гормонів у дослідних кролів виявлено зменшення в циркуляції кількості нейтрофільних лейкоцитів. У крові цих тварин диференціювали і незрілі форми гранулоцитів, що свідчить про зміни в гемопоезі, а також порушення функціонування систем, відповідних за вихід зрілих нейтрофілів із кісткового мозку в кровоток.

Відомо, що великі дози тиреоїдних гормонів зменшують кількість поліпотентних стволових кровотворчих клітин кісткового мозку, що призводить до пригнічення усіх паростків кровотворення (Бахметьев, 1984). Дослідження гемопоезу у цих тварин показало, що зниження абсолютного числа клітин гранулоцитарного паростка є результатом зменшення кількості клітин дозріваючого пула, при незмінному вмістові проліферуючих клітин.

Затримка дозрівання гранулоцитів у кістковому мозку у фазі метаміелоцитарних та зрілих елементів, а також супутна з нею лейко- та нейтрофілопенія в умовах тиреотоксикозу встановлена й іншими авторами (Сахарчук, 1965; Ивлева, 1970; Гарсиашвили с соавт., 1985).

У крові тварин з надміром гормонів щитовидної залози, поряд з кількісними відбуваються і якісні зміни нейтрофілів. Так, серед зернистих лейкоцитів відмічалася поява крупних форм, підвищення кількості клітин з гіперсегментацією ядра, а також з редукованим лізосомальним апаратом. Повноцінна лізосомально-катіонна формула зберігалася у 48% нейтрофілів. Активність лізосомальної кислій фосфатази в сироватці крові цих тварин зв'язувалася з процесами секреторної дегрануляції нейтрофільних лейкоцитів.

В умовах підвищеного вмісту тиреоїдних гормонів важливим фактором дестабілізації лізосомальних мембран, і як наслідок виходу активних кислих гідролаз у кров, є підсилення ліпідного обміну на рівні плазматичних мембран, що призводить до лабілізації білок-ліпідних зв'язків, а також до зниження упо-

рядкування та в'язкості ліпідного бішару (Марзоев с соавт., 1980; Ташмухамедов с соавт., 1981; Лемешко с соавт., 1986; Никитин, Бабенко, 1989). Напевно, посиленню секреторної дегрануляції в цих умовах також сприяє тканева гіпоксія (Гольбер, Кандрор, 1972; Подильчак с соавт., 1990), зниження активності антиоксидантних систем (Янголенко, Огороков, 1991), активація процесів перекисного окислення ліпідів (Марзоев с соавт., 1982), зміни метаболізму стрес-гормонів (Гагельганс с соавт., 1972).

Порушення структури плазматичних мембран, підвищення концентрації клітинної цАМФ, інтенсифікація обмінних процесів, з утворенням метаболітів арахідонової кислоти в умовах надміру гормонів щитовидної залози (Теппермен, Теппермен, 1989; Саатов с соавт., 1990), можливо припустити, є тими факторами, що призводять до прояву лейкоцитами гіперадгезивних властивостей.

Тиреотоксикоз змінював стан основних протеолітичних систем плазми, що проявлялося в зниженні коагуляційних властивостей крові, активації фібринолітичної, калікреїн-кінінової систем у дослідних тварин. Як свідчать дані літератури, ці порушення мають складний генез й обумовлені посиленням розпаду та зниженням синтезу прокоагулянтів, значним ростом протизсідуючого потенціалу крові, збільшенням вмісту вільного гепарину, концентрації плазміну, зниженням агрегатних властивостей тромбоцитів, розвитком аутоімунних реакцій, змінами балансу біологічноактивних речовин, підвищеною активністю симпатичної нервової системи та іншими (Киричук, 1976; Ковалев, 1981; Павловский, 1977; Олейник, Матяшина, 1986; Шрейбер, 1987).

Таким чином, надмір та нестача тиреоїдних гормонів у крові призводить до значних порушень функціональної активності лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів. Природно, що в цих умовах дія стресорних факторів викликає зміни адаптивних властивостей організму, обумовлених участю лізосомальних ферментів нейтрофілів.

Імобілізація інтактних тварин призводила до розвитку нейтрофільного лейкоцитозу з максимальною кількістю нейтрофілів у крові на 4 добу дослідження. Протягом перших

4 діб після дії стресора нейтрофіліоз забезпечувався інтенсивним надходженням зрілих кістково-мозкових гранулоцитів у циркуляцію, надалі - активацією як дозріваючого, так і проліферуючого пулів гранулоцитарного паростка.

Відмічені особливості кінетики нейтрофільних гранулоцитів, згідно з сучасними уявленнями, є типовими реакціями системи крові й гемопоезу на стресорний вплив (Горизонтов с соавт., 1983; Дыгай, Шахов, 1989; Гольдберг с соавт., 1990; Селье, 1971).

Постімобілізаційний нейтрофіліоз у контрольних тварин супроводжувався зменшенням кількості лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків у нейтрофільних лейкоцитах. Найбільш значна постстресорна дегрануляція та декатіонізація нейтрофілоцитів спостерігалася на 4 добу, що відповідало періоду найбільшого вияву нейтрофіліозу.

Рівень максимальної активності лізосомальної кислоти фосфатази в сироватці крові рееструвався також на 4 добу, коли абсолютний вміст дегранульованих нейтрофілів був найбільш високим. Наприкінці експерименту у контрольних тварин з нормалізацією лізосомально-катіонної формули нейтрофільних лейкоцитів знижувалася активність кислоти фосфатази в сироватці крові.

За умов відсутності стану напруги і збереження цілісності мембран ферменти лізосом мають обмежену активність (Табукашвили с соавт., 1991). Стресорна дія призводить до активації аденілатциклазної системи (Дорофеев с соавт., 1978; Коровкин, 1982), процесів перекисного окислення ліпідів клітинних мембран (Меерсон, 1981; Барабой, 1989), що сприяє підвищенню проникливості мембран та вивільненню гідролітичних ферментів у кров.

Зниження кількості лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків у нейтрофілах зумовлено виходом їх вмісту в кров шляхом екзоцитозу, що було встановлено в нашій лабораторії при проведенні електронно-мікроскопічних досліджень (Коваль с соавт., 1983). Це відповідає описам інших авторів секреторної дегрануляції, яка призводить до вивільнення лізосомальних ферментів у позаклітинне середовище без ознак цитолізу та зі збереженням життєздатності клітин (Алмазов с соавт., 1979; Бахов с соавт., 1988; Beesley e. a., 1988).

У проведених нами дослідженнях непрямим підтвердженням екзоцитозного механізму надходження ферментів лізосом у кров при іммобілізації було збереження в циркуляції повністю де-гранульованих нейтрофілів при збільшенні (а не зменшенні) загального вмісту нейтрофільних лейкоцитів у периферичній крові.

Іммобілізаційний стрес підсилював реакцію спонтанної агрегації лейкоцитів у контрольних тварин. Максимальне підвищення лейкогічних властивостей відмічалось в період найбільшої активності кислої фосфатази в крові - на 4 добу. Гіперадгезивність за цих умов може бути індукована комплектом (Бережная, 1988; Маянский, 1989), лізосомальними ферментами, катіонними білками, фібриногеном (Wautier e. a., 1983; Berliner e. a., 1987; Ginis, Tauber, 1990), активність і вміст яких під час іммобілізації зростає (Агафонова, Лунина, 1987).

Найважливішими адаптаційними механізмами, що забезпечують пристосування організму до змін умов середовища та підтримку гомеостазу, є фізіологічні механізми зсідання, фібринолізу, кініногенезу. Згідно з сучасними уявленнями структура та функціональна єдність цих систем у значній мірі визначається існуванням спільного центру активації - фактора Хагемана (Баркаган, 1985; Баркаган, Кузник, 1990). Попередні дослідження показали пряму активацію фактора Хагемана лізосомальними ферментами нейтрофільних лейкоцитів, причому більш виражену, ніж активація фактору XII лізосомальними ферментами печінки та мозку (Лунина, Коваль, 1983).

Під час даного експерименту 12-годинна іммобілізація викликала активацію основних гемостатичних систем плазми - зсідуючої, фібринолітичної, калікреїн-кінінової. Подібні якісні зміни зазначених систем в умовах дії стресорів неінфекційної природи відмічені й іншими авторами (Коленда с соавт., 1985; Лобань-Черета, Новосельцева, 1990).

Максимальна активація Хагеман-залежних систем плазми спостерігалася в періоди найбільшої активності кислої фосфатази у крові, що ще раз підтверджує залежність процесів гемокоагуляції, фібринолізу, кініногенезу при іммобілізації від активності лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів.

Результати досліджень, одержані при вивченні впливу

імобілізації на кінетику нейтрофілів, стан їх лізосомального апарату та активність Хагеман-залежних систем крові у контрольних тварин, стали основою для аналізу тих змін, що були встановлені у тварин з нестачею та надлишком тиреоїдних гормонів після стресорного впливу.

Під час дії імобілізації за умов дефіциту тиреоїдних гормонів особливості гранулоцитарної реакції проявлялися в більш тривалому розвитку нейтрофілозу (протягом всього експерименту, з максимальним виявом на 12 добу), а також у зниженні абсолютного вмісту нейтрофільних лейкоцитів у крові. Вищезазначені процеси були обумовлені виходом зрілих сегментоядерних нейтрофілів із кісткового мозку в циркуляцію в більш пізній термін (6-8 доба) і з меншою інтенсивністю, ніж у контрольних тварин. Крім того, постімобілізаційна активація мієлопоєзу при гіпотиреозі відбувалася на рівні тільки проліферуючих клітин і тривала з 6 по 16 добу. Підвищення кількості клітин дозріваючого пулу протягом експерименту так і не відбулося.

Тривала підтримка нейтрофілозу у дослідних тварин, поряд з надходженням гранулоцитів із кісткового мозку, забезпечувалася, цілком ймовірно, й частковим переходом нейтрофілів у циркуляцію з маргінального пулу, про що свідчать більш низькі ніж у контрольних тварин показники адгезивних властивостей лейкоцитів.

Дослідження стану лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків у нейтрофілах за умов пригнічення функції щитовидної залози дозволило встановити зменшення їх кількості під час розвитку стрес-реакції. Процес дегрануляції та декатіонізації у цих тварин був більш тривалим та менш інтенсивним, з максимальним проявом, як і у контролю, на 4 добу. Зміна абсолютної кількості дегранульованих нейтрофілів відбувалася відповідно дегрануляції нейтрофілоцитів. Так, збільшення абсолютного вмісту дегранульованих нейтрофілів спостерігалось протягом всього обстеження, при цьому з 1 по 8 добу воно було нижче, а з 12 доби - вище контрольних показників. Відновлення числа нейтрофілів із повноцінною лізосомально-катіонною формулою наприкінці експерименту, на відміну від контролю, не відбулося.

Динаміка постстресорної активності кислої фосфатази у

сироватці крові при нестачі тиреоїдних гормонів знаходилася у відповідності з рівнем дегрануляції нейтрофільних лейкоцитів. Максимальна активність лізосомального ферменту рееструвалася у строки, коли дегрануляція та абсолютна кількість дегранульованих нейтрофілів у циркуляції була найбільшою.

Слід відмітити, що загальний вміст кислій фосфатази в крові тварин з гіпотиреозом у кожний із періодів дослідження перевищував контрольні показники, оскільки не тільки стрес, але й сам по собі стан дефіциту гормонів щитовидної залози призводив до збільшення в крові лізосомальних ферментів.

За умов нестачі тиреоїдних гормонів стресорна дія не викликала вираженої активації Хагеман-залежних систем крові, як це було у інтактних тварин, що, вірогідно, було обумовлено вихідною напругою досліджуваних систем. Зміни систем гемостазу та кінногенезу у тварин з гіпотиреозом були триваліші за часом, з найбільшим проявом, як і у контрольних тварин, на 4 добу експерименту, що відповідало часу максимального зменшення кількості лізосом у нейтрофілах та найбільшій активності кислій фосфатази в сироватці крові.

У тварин з надміром гормонів щитовидної залози у відповідь на дію стресора підвищення кількості нейтрофільних лейкоцитів тривало протягом всього експерименту, з максимальним проявом у більш пізніші строки, ніж у контролю, на 8 добу. При цьому інтенсивність нейтрофільного лейкоцитозу у другий період розвитку стрес-реакції була вище, а в інші строки дослідження не відрізнялася від контрольних показників.

Динаміка розвитку гранулоцитарних реакцій за даних умов пояснюється подовженням фази мобілізації кістково-мозкового резерву гранулоцитів, а у подальшому - активацією дозріваючого гранулоцитарного паростка.

У початковий період стрес-реакції відбувалося інтенсивне зменшення кількості клітин проліферуючого пулу, яке в першу добу спостереження значно перевищувало контрольні показники. Можливо, з цими процесами пов'язана поява в цей же період у циркуляції незрілих форм нейтрофілів. Активації ж проліферуючого пулу у ході експерименту так і не відбулося.

Зниження рівня постстресорної активації гранулоцитопоезу, і як наслідок, загального вмісту нейтрофілів у периферичній

крові тварин з тиреотоксикозом, імовірно, обумовлено катаболічним ефектом великих доз тиреоїдних гормонів на процеси поділу, росту, дозрівання клітин, у тому числі й кістково-мозкових (Розен, 1980; Шрейбер, 1987). За цих умов не виключається можливість впливу на процеси кістково-мозкового кровоутворення індукції синтезу гормонів кори надниркової залози (Бахметьев, 1984).

Під час тиреотоксикозу спостерігалось постімобілізаційне зменшення кількості лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків у нейтрофільних лейкоцитах та підвищення вмісту лізосомальної кислоти фосфатази в сироватці крові. Інтенсивність даних процесів протягом всього експерименту залишалася нижче контрольних значень. Максимальна активність лізосомального ферменту, на відміну від контролю, приходилася на 2 добу дослідження, що відповідало часу найбільшої дегрануляції нейтрофілів.

У тварин з надлишком тиреоїдних гормонів під час розвитку стрес-синдрому особливості активації систем крові, залежних від фактору Хагемана, полягали у зсуванні часу максимального прояву даних процесів на більш ранні строки (2 доба), а також у зниженні ступеня вираженості показників зсідання, фібринолізу, кініногенезу у порівнянні з контролем. Періоди найбільшої функціональної активності Хагеман-залежних систем крові відповідали строкам максимальної концентрації лізосомальних ферментів у сироватці крові.

Порівняння кінетики нейтрофільних гранулоцитів у тварин дослідних груп поміж собою вказує на те, що при підвищеному вмісті гормонів щитовидної залози постімобілізаційний розвиток нейтрофільного лейкоцитозу проходив більш інтенсивно, з максимальним проявом нейтрофілозу у більш ранній час, ніж в умовах дефіциту тиреоїдних гормонів. Такий характер гранулоцитарної реакції у тварин з надлишком тиреоїдних гормонів обумовлений більш тривалим та більш інтенсивним надходженням гранулоцитарних клітин із кісткового мозку в циркуляцію.

Протягом 8 діб після дії стрес-фактору у тварин як з гіпотиреозом, так і тиреотоксикозом збільшення абсолютної кількості дегранульованих нейтрофілів у крові було виражено в однаковій мірі. У подальшому, за умов підвищеного вмісту

гормонів тиреоїдної залози, спостерігалася тенденція до більш швидкого відновлення числа нейтрофілів з нормальною лізосомально-катионною формулою, зменшення рівня кислій фосфатази у сироватці крові.

Адгезивні властивості лейкоцитів у кролів обох дослідних груп після дії подразника змінювалися відповідно з динамікою вмісту лізосомальних ферментів у крові.

Слід відмітити, що у тварин з порушенням тиреоїдного статусу максимальна дегрануляція та декатионізація нейтрофілів не співпадала з максимумом нейтрофільного лейкоцитозу, що мало місце у інтактних тварин.

Аналіз постімобілізаційного стану Хагеман-залежних систем крові у тварин з нестачею та надміром тиреоїдних гормонів дозволяє відмітити подібний характер як за тривалістю, так і за інтенсивністю прояви активності зсідаючої та калікреїн-кінінової систем крові.

На нашу думку, це результат тих біохімічних та функціональних порушень, які супроводжують як гіпотиреоз, так і тиреотоксикоз і впливають на стан гемостазу та активність калікреїн-кінінової системи, і до яких в першу чергу можна віднести зрушення процесів окислення та фосфорелювання, синтезу АТФ, поглинення тканинами кисню, зміни основного обміну, балансу біологічно активних речовин, таких як біогенні аміни, простагландини, вітаміни, стероїдні гормони та інші (Гольбер, Кандрор, 1972; Шрейбер, 1987; Балаболкин, 1989; Теппермен, Теппермен, 1989).

Більш значне скорочення часу Хагеман-залежного фібринолізу у тварин з дефіцитом гормонів щитовидної залози (до та після стресорного впливу) можна пояснити встановленою у ході наших досліджень більш вираженою активністю лізосомальних ферментів у сироватці крові.

Таким чином, зміни концентрації гормонів щитовидної залози як у бік підвищення, так і зниження призводять до пригнічення гранулоцитопоезу і, як наслідок, до розвитку нейтрофілопенії, а також зменшення кількості лізосом та гранул лізосомальних катионних білків у нейтрофілах, підвищення активності кислій фосфатази у сироватці крові. Ступінь прояву вищезазначених процесів залежав від концентрації тиреоїдних гормонів у крові.

Література має дані про те, що лізосомальні ферменти можуть виконувати роль агрегаційного чинника для лейкоцитів у відповідь на різноманітну стимуляцію (Бережная, 1988; Wautier e.a., 1983). Однак привертає увагу той факт, що за умов надлишку та дефіциту гормонів тиреоїдної системи виявляється різний характер адгезивних властивостей лейкоцитів. Одержані нами дані дозволяють припустити, що під час тиреоїдної патології лізосомальні ферменти не визначають лейкогеричні властивості лейкоцитів периферичної крові.

Кількісні та структурні зрушення нейтрофільних гранулоцитів, зміни їх адгезивних властивостей, а також зміни функціональної активності основних протеолітичних систем плазми свідчать про послаблення реактивності організму за умов дисбалансу тиреоїдних гормонів.

На цьому фоні дія іммобілізації призводила до зниження ступеня вираженості та підвищення тривалості нейтрофільного лейкоцитозу. Одночасно у нейтрофілах реєстрували зменшення числа лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків. Таким чином, можна стверджувати, що в процесі розвитку стрес-реакції тиреоїдні гормони впливають на характер гранулоцитарних реакцій, тобто активність гемопоезу, вміст нейтрофільних лейкоцитів у циркуляції, а також міру їх дегрануляції та декатіонізації.

Зміни функціонального стану лізосом нейтрофілів за умов нестачі та надлишку гормонів щитовидної залози в організмі, як до, так і після іммобілізації, свідчать про існування тиреоїдзалежного механізму активації лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові.

У процесі дослідження у тварин з дисфункцією щитовидної залози встановлена залежність постіммобілізаційної активності Хагеман-залежних систем крові від вмісту лізосомальних ферментів у крові. Взаємозв'язок між деякими показниками зсідаючої, фібринолітичної, кінінової систем та активністю кислій фосфатази в сироватці крові підтверджується розрахунком коефіцієнта кореляції (r). У тварин з надміром та нестачею тиреоїдних гормонів виявлена пряма корелятивна залежність від концентрації лізосомальних ферментів активності кефалін-каолінового ($r = 0,71$), ($r = 0,69$), силіконового ($r = 0,65$),

($r = 0,71$), тромбінового ($r = 0,51$), ($r = 0,60$), часу зсідання плазми, часу фібринолізу, залежного від фактору Хагемана ($r = 0,68$), ($r = 0,79$), протромбінового часу плазми у тесті «холодова активація калікреїнового мосту» ($r = 0,62$), ($r = 0,80$).

Таким чином, одержані дані дозволяють зробити висновок, що при формуванні стрес-синдрому тиреоїдні гормони, змінюючи реакцію лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів та активність фактору Хагемана, беруть участь у регуляції гуморальних функцій організму.

При цьому слід відмітити наявність подібних тенденцій у характері змін вивчаємих показників у тварин із порушеним тиреоїдним статусом та тварин із пригніченою функцією ГТАКС (Лунина, Чехов, 1992), а також із вимкненими бета-адренорецепторами (Лунина, Вовк, 1992) при іммобілізації. Це дозволяє припустити, що поряд з безпосереднім впливом на хід адаптивних процесів, дія тиреоїдних гормонів опосередковується і через зміни в системі нейро-гуморальної регуляції.

Установлене зниження активності гранулоцитопоезу, інтенсивності нейтрофілозу, міри дегрануляції та декатіонізації нейтрофілів, лейкоергичних властивостей лейкоцитів, активності Хагеман-залежних систем плазми у тварин з дисбалансом тиреоїдних гормонів під час дії 12-годинної іммобілізації свідчить про послаблення адаптивних можливостей гранулоцитарної системи, що дає змогу вважати гормони щитовидної залози необхідним компонентом у формуванні стрес-синдрому.

ВИСНОВКИ

1. Порушення тиреоїдного статусу організму як у бік підвищення, так і зниження вмісту тиреоїдних гормонів у крові призводить до пригнічення гранулоцитопоезу, зменшення кількості нейтрофільних лейкоцитів у циркуляції, змін адгезивних властивостей лейкоцитів, а також активності основних протеолітичних систем крові.
2. Тиреоїдзалежна активація лізосомального апарату нейтрофілів виражається в зниженні кількості лізосом та гранул лізосомальних катіонних білків, підвищенні активності

лізосомальної кислій фосфатази в сироватці крові. Ступінь прояву даних процесів залежить від концентрації гормонів щитовидної залози в крові.

3. Дія іммобілізації на тлі дисбалансу тиреоїдних гормонів призводить до послаблення гранулоцитопоезу, зниження інтенсивності та підвищення тривалості нейтрофільного лейкоцитозу.

4. При формуванні адаптаційного синдрому гормони щитовидної залози змінюють функціональну активність лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові.

5. За умов нестачі та надлишку тиреоїдних гормонів постіммобілізаційна активність Хагеман-залежних систем крові знаходиться в корелятивній залежності від вмісту лізосомальних ферментів у сироватці крові.

6. Під час розвитку стрес-реакції тиреоїдні гормони визначають активність зсідуючої, фібринолітичної, калікреїн-кінінової систем плазми, при цьому їх вплив, поряд з іншими механізмами, реалізується через активацію лізосомального апарату нейтрофілів та фактор Хагемана.

7. Дисбаланс тиреоїдних гормонів призводить до зниження адаптивних можливостей гранулоцитарної системи при дії стресора неінфекційної природи, що дозволяє вважати гормони щитовидної залози необхідним компонентом у формуванні стрес-синдрому.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гончар О. А. Влияние функционального состояния щитовидной железы на реакцию системы периферической крови при действии стресс-фактора // В кн.: Экология промышленного региона Донбасса. Материалы 3-й региональной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. - Луганск, 1993. - С. 31-32.

2. Луніна Н. В., Гончар О. О. Реакція лізосом нейтрофільних лейкоцитів і систем гемостазу плазми за умов іммобілізаційного стресу при гіпотиреоїдизмі // Український біохімічний журнал. - 1994. - т. 66, № 5. - С. 62-67.

3. Гончар О. О. Вплив тиреоїдних гормонів на реакцію лізосомального апарату нейтрофілів та активність основних

гемостатичних систем крові // XIV з'їзд Українського фізіологічного товариства: тези доповідей. - Київ, 1994. - С. 212-213.

4. Луніна Н. В., Гончар О. О. Вплив іммобілізаційного стресу на реакцію лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові в умовах дисфункції щитовидної залози // К., 1995. - 11 с. Деп. в ДНТБ України 1.06.95, № 1321 - УК 95.

5. Гончар О. А. Влияние тиреоидных гормонов на функциональную активность нейтрофилов и развитие гранулоцитарных реакций при действии иммобилизации // К., 1995. - 13 с. Деп. в ГНТБ Украины 13.06.95, № 1481 - УК 95.

6. Луніна Н. В., Гончар О. О. Зміни функціонального стану лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові кролів при дії іммобілізації в умовах дефіциту тиреоїдних гормонів // Фізіологічний журнал. - 1995. - т. 41, № 1-2. - С. 73-79.

7. Гончар О. А. Участие гормонов щитовидной железы в формировании адаптивных реакций организма в экстремальных условиях // В кн.: Материалы отчетной научно-технической конференции Луганского сельхозинститута. - Луганск, 1995. - С. 108.

8. Гончар О. О., Луніна Н. В. Роль тиреоїдних гормонів у механізмах регуляції вегетативних функцій організму // В кн.: Матеріали доповідей Всеукраїнського наукового симпозіуму з фізіології людини «Особливості формування та становлення психофізіологічних функцій в онтогенезі». - Київ - Черкаси, 1995. - С. 19.

Gonchar O. A. The influence of thyroid hormones on the formation of the granulocytal system reactions during the immobilization stress. The dissertation is presented for conferring the degree of candidate of biological science in the speciality 03.00.13 - physiology of man and animal. A. A. Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, 1995.

The reactions of the granulocyte system and the functional activity of the neutrophilic leukocytes of peripheral blood under conditions of hypothyroidism and thyroidotoxicosis in response to the 12-hours immobilization have been studied in experiments on male rabbits. It's been revealed that during the process of development of the stress-reaction, thyroid hormones influence on activity of granulocytogenesis, intensity and duration of neutrophilic leukocytosis, contents of lysosomes and granules of lysosomal albumens in neutrophils, activity of acid phosphatase, adhesive qualities of leukocytes, activity of Hageman-dependent systems in blood. It is shown one of the possible ways of involving thyroid hormones in humoral regulation of the functions of the organism during the forming of the adaptation syndrom. That is, through the activation of lysosomal apparatus of neutrophil leukocytes, increasing concentration lysosomal ferments in blood, activity of the Hageman-factor.

Гончар О. А. Влияние тиреоидных гормонов на формирование реакций гранулоцитарной системы при иммобилизационном стрессе.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 - физиология человека и животных. Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев, 1995.

В опытах на кроликах-самцах изучалась реакция гранулоцитарной системы и функциональная активность нейтрофильных лейкоцитов периферической крови в условиях гипотиреоза и тиреотоксикоза при действии 12-часовой иммобилизации. Установлено, что в процессе развития стресс-реакции тиреоидные гормоны влияют на активность гранулоцитопоэза, интенсивность и продолжительность нейтрофильного лейкоцитоза, содержание лизосом и гранул лизосомальных катионных белков в нейтрофилах, активность фермента кислой фосфатазы, адгезивные свойства лейкоцитов, активность Хагеман-зависимых систем крови. Показан один из возможных путей участия гормонов щитовидной железы в гуморальной регуляции функций организма при формировании адаптационного синдрома, а именно через активацию лизосомального аппарата нейтрофилов, повышение концентрации лизосомальных ферментов в крови, активацию фактора Хагемана.

Ключові слова: тиреоїдні гормони, іммобілізаційний стрес, нейтрофільні гранулоцити, лізосоми, лізосомальні ферменти, система гемостазу.

Підписано до друку 16.11.95. Формат 60x84/16. Папір друк. Гарнітура літературна. Друк офсетний. Умовн. друк.арк. 1,0. Тираж 100 прим. Замовлення 5939.

Обласна друкарня. 348040, Луганськ, вул. Ватутіна, 89а.

452979

AB 33.632

AB 33.632