

**М. Э. Федорова,
В. Н. Левин, А. В. Пизов**

**Сравнительная оценка
осморегуляторных реакций
лейкоцитов человека
и белых крыс**

Известным, но малоизученным фактом является способность белых клеток крови к регуляции объема в гипотонических средах. Осморегуляторные реакции лейкоцитов были описаны в ряде работ. Г. Н. Зацепиной с соавт. (1987) показано уменьшение объема лейкоцитов тимуса и селезенки мышей в 0,08М растворе, начиная, примерно, с 90-й секунды инкубации. При этом набухание клеток сопровождалось увеличением мембранного потенциала, а мембранный потенциал отрегулированных лимфоцитов был в 1,2 раза ниже, чем в изотонической среде. Регуляторное уменьшение объема макрофагов в гипосмотической

среде отмечено в работах А. А. Галкина и Б. И. Ходорова (1988) и И. А. Гамалея с соавт. (1991). В доступной нам литературе данных об осмотических изменениях и осморегуляции лейкоцитов периферической крови не встретилось, поэтому было проведено изучение указанных реакций у лимфоцитов человека и белых крыс.

Материал и методы исследования

Исследование проводилось по следующей схеме. Венозную кровь человека и смешанную белых крыс (по 10 мл) центрифугировали в течение 10 минут при 1500 об./мин. Собирали кольцо лейкоцитов. Примесь эритроцитов удаляли, используя в качестве гемолитического средства 0,83% раствор хлорида аммония. Лейкоциты дважды отмывали раствором Дюльбекко. По 10 мкл концентрированной суспензии лейкоцитов помещали в лунки планшетов для микробиологических исследований. Туда же добавляли 100 мкл одного из растворов хлорида натрия (0,9%; 0,45%; 0,2%). 0,9% раствор хлорида натрия является изотоничным плазме крови, в 0,45% растворе хорошо проявляются осморегуляторные способности белых клеток, в 0,2% растворе осморегуляторные реакции невозможны и часть лейкоцитов подвергается гемолизу. Инкубацию лейкоцитов в 0,9%, 0,45% и 0,2% растворах хлорида натрия проводили в течение 60 с. В четвертой лунке время экспозиции белых клеток в 0,45% растворе увеличили до 1 часа. По прошествии времени инкубации лейкоциты фиксировали непосредственно в лунках глутаровым альдегидом (10 мкл 25% раствора). При этом, согласно данным С. Д. Дуглас, П. Г. Куи (1983), сохраняется прижизненная форма клеток. Из фиксированных клеток готовили мазки и окрашивали азу-эозином. Измеряли диаметр клеток (объектив 90 МИ, окуляр-микроскоп МОВ-1-15*) и рассчитывали площадь поверхности и объем по формулам для шаровидных тел.

Все полученные данные обработаны статистически. Достоверность различий оценивалась по критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Для лимфоцитов, инкубированных 60 с в средах разной осмолярности, были получены следующие данные (табл. 1).

Таблица 1

Диаметр лимфоцитов (мкм) крови в изотонической и гипотонических средах

Лимфоциты	0,9% раствор NaCl	0,45% раствор NaCl	0,2% раствор NaCl
человека	6,5±0,1	7,1±0,1	7,1±0,1
крысы	5,2±0,05**	5,7±0,07**	6,0±0,1**

Примечание: звездочками отмечена достоверность различий (p<0,01) размеров лимфоцитов человека и белых крыс.

Лимфоциты человека оказались крупнее, чем у крыс, и достигали максимального объема уже в 0,45% растворе хлорида натрия. Увеличение площади поверхности при этом составляло 19%. Мембранная поверхность лимфоцитов крыс в 0,45% растворе возрастала на 20%, а в 0,2% — на 33%, то есть при меньшем исходном объеме лимфоциты крыс либо имеют большие резервные возможности мембраны, либо эти резервы эффективнее используются при ступенчатом снижении осмолярности окружающей клетки среды.

При увеличении времени инкубации лимфоцитов в 0,45% растворе до 1 часа происходило регуляторное уменьшение их объема практически до исходной величины (табл. 2).

Таблица 2

Динамика диаметра (мкм) и объема (мкм³) лимфоцитов при разном времени инкубации в 0,45% растворе хлорида натрия

Лимфоциты	0,9% раствор NaCl	0,45% раствор NaCl	0,45% раствор NaCl
		(60 с)	(1 ч)
человека	6,5±0,1 (144)	7,1±0,1** (187)	6,5±0,1 (144)
крысы	5,2±0,05 (74)	5,7±0,07** (97)	5,3±0,07 (78)

Примечание: звездочками отмечена достоверность различий (p<0,01) по сравнению с размерами клеток в изотонической среде; в скобках указан средний объем лимфоцитов.

Осморегуляторные реакции лимфоцитов человека и крыс выражены примерно одинаково. При отсутствии достоверных межгрупповых различий у человека наблюдалась тенденция к уменьшению размера клеток по сравнению с исходным (-0,1±0,1 мкм), у крыс он

оставался несколько более высоким ($0,06 \pm 0,06$ мкм).

В связи с особенностями лейкоцитарной формулы у крыс не удалось замерить достаточное для обсчета количество гранулоцитов. У человека динамика объема нейтрофилов в средах разной осмолярности и осморегуляторные реакции аналогичны таковым у лимфоцитов (табл. 3).

Таблица 3

Изменения диаметра (мкм) нейтрофилов человека в гипотонических средах

0,9% раствор NaCl	0,45% раствор NaCl (60 с)	0,2% раствор NaCl (60 с)	0,45% раствор NaCl (1 ч)
7,7±0,2	7,9±0,2	8,1±0,2	7,3±0,2*

Примечание: звездочкой отмечена достоверность ($p < 0,05$) различий по сравнению с размерами клеток в гипотонических растворах при 60-секундной инкубации.

Однако колебания объема гранулоцитов имели значительно меньшую амплитуду. Увеличение площади поверхности в 0,45% растворе хлорида натрия было 5%, в 0,2% — 11%. Резервный мембранный фонд у гранулоцитов почти в два раза меньше, чем у лимфоцитов. Осморегуляторное уменьшение объема при часовой экспозиции в 0,45% растворе NaCl вело к снижению диаметра по сравнению с исходным на $-0,3 \pm 0,2$ мкм, то есть сохранялась тенденция, характерная для лимфоцитов человека.

На основании полученных данных можно констатировать, что при наличии видовых различий в абсолютных размерах лимфоцитов осморегуляторные реакции лейкоцитов человека и белых крыс являются аналогичными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галкин А. А., Ходоров Б. И. Регуляторное уменьшение объема макрофагов в гипоосмотической среде, обусловленной активацией фуросемидчувствительной системы ионного котранспорта // Внутриклеточная сигнализация. М.: Наука, 1988. С. 166-171.
2. Гамалей И. А., Каулин А. Б., Кирпичникова К. М. Активация макрофагов синтети-

ческими пептидами // Цитология. 1991. № 7. С. 69-78.

3. Дуглас С. Д., Куи П. Г. Исследование фагоцитоза в клинической практике. М.: Медицина, 1983. 112 с.
4. Зацепина Г. Н., Сон Чхол Хун, Тарнопольская О. В. Кинетика осморегуляции лимфоцитов // Деп. в ВИНТИ. № 4304-В87. 1987. 12 с.