

До питання про механізм ушкоджуючої дії алергічної реакції на лейкоцитарні клітини

Л. Д. Карпенко

Лабораторія мікробіології та імунології Інституту отоларингології
Міністерства охорони здоров'я УРСР, Київ

В останні роки збільшується інтерес до вивчення механізмів ушкодження клітини імунною реакцією. Про це свідчать повідомлення на IX Міжнародному конгресі мікробіологів та імунологів у Москві в 1966 р., а також робота симпозіумів, присвячених комплементу та лізосомам, у Лондоні в 1963 і 1965 рр. Встановлена важлива роль лейкоцитів в алергічних процесах. Показано, що тільки за допомогою цих клітин можливе перенесення сповільненої гіперчутливості від донора до реципієнта, і що у сенсibilізованих тварин з лейкопенією не вдається відтворити феномен Артюса [7, 9, 15]. Контакт лейкоцитів алергізованих індивідумів з гомологічним алергеном веде до їх ушкодження і загибелі [17, 18].

Незважаючи на велике теоретичне і практичне значення дослідження метаболічних порушень, які передують загибелі білої клітини крові, ушкодженої алергічною реакцією, в літературі є лише нечисленні суперечливі повідомлення, присвячені цій проблемі [див. огляд 8].

Завдання цього дослідження полягало у вивченні цитохімічними методами ушкоджуючого ефекту мікробних алергенів на білкові, ліпідні та вуглеводні компоненти сенсibilізованих гранулоцитів крові хворих з хронічним осередком гнійної інфекції у вусі. Для оцінки порівняльних морфологічних змін, які дозволяють судити про резистентність лейкоцитів і стан їх мембран при впливі алергенів, була застосована люмінесцентна мікроскопія, яка з великим контрастом виявляє ядерну структуру та цитоплазматичні гранули у вітально флуорохромованих препаратах.

Методика досліджень

Виготовлення алергенів — збудників гнійно-запальних захворювань (стрептокока α і β , стафілокока золотистого і білого), а також постановка внутрішкірних проб з ними провадилися за методиками, прийнятими в нашій лабораторії [1, 2]. Реакція ушкодження гранулоцитарних лейкоцитів ставилася так: шляхом відстоювання гепаринізованої крові і відсмоктування надеритроцитарного лейкоцитного шару одержували наважку формених елементів, збагачену гранулоцитами. Останню розливали в три пробірки по 0,4 мл. У першу пробірку додавали 0,1 мл фізіологічного розчину; у другу — 0,1 мл алергену, до якого хворий був у слабкій мірі сенсibilізований; з цим алергеном при внутрішкірному введенні була найбільш слабка сповільнена реакція. В третю пробірку додавали 0,1 мл алергену, до якого хворий був сенсibilізований значною мірою. Цей алерген давав найбільш виражену сповільнену шкірно-алергічну реакцію у цього хворого. Розведення алергенів застосовували такі самі, як і для шкірних проб. Після розливання і перемішування інгредієнтів реакції пробірки поміщали в термостат при 37°C на 18–20 годин. Слідом за інкубацією з вмісту кожної пробірки готували три мазки на предметних скельцях і один препарат — «роздавлена краплина» для вітального флуорохромовання. Мазки фарбували на сумарні білки методом сулема — бромфенолового синій [6], на ліпіді сульфатом чорним Б [16], на вуглеводі (глікоген) — методом Шіфф — періодна кислота [4]. Для вітального флуорохромовання застосовували акридин оранжевий [3].

Про порівняльний вміст у клітинах білка, ліпідів і глікогену судили на підставі зіставлення середніх коефіцієнтів Астальді Верга [5]. У вітальних препаратах визначали кількість клітин, що руйнуються.

У 30 хворих на хронічний ефект алергенів на гранулоцити наведені в таблиці.

Результати взаємодії сенсibilізованих лейкоцитів з гомологічним алергеном

Реагент, який додають до лейкоцитарної наважки

Фізіологічний розчин
Алерген, який викликає найбільш слабку шкірну реакцію
Алерген, який викликає найбільш сильну шкірну реакцію

Реагент, який додають до лейкоцитарної наважки

Фізіологічний розчин
Алерген, який викликає найбільш слабку шкірну реакцію
Алерген, який викликає найбільш сильну шкірну реакцію

Як видно з таблиці, в марного білка в клітинах, алергену, до якого сенсibilізація була виражена, у лейкоцитах, що взаємодіють з алергеном, до якого сенсibilізація у хворих була виражена, цитарних клітин з алергеном призводив до істотного зменшення вмісту в них у порівнянні з контролем алергену, до якого була виражена найбільш різким зниженням по

При вивченні вітальних дій алергенів на лейкоцити, в цьому різниці в кількості клітин, алергенами статистично значущо зв'язані з набуханням цитоплазми, зменшенням проникності ядерної оболонки, втраті сегментарної будови цитоплазми. В таких клітинах гранулоцитах легше визначити РНК.

шкоджуючої дії
цитарні клітиниституту отоларингології
УРСР, Київ

вивчення механізмів ушко-
свідчать повідомлення на-
та імунологів у Москві в
ячених компоненту та ли-
влена важлива роль лейко-
тільки за допомогою цих
гіперчутливості від донора
ин з лейкопенією не вдає-
Контакт лейкоцитів алергі-
ном веде до їх ушкоджен-

практичне значення дослі-
ють загибелі білої клітини
ературі є лише нечисленні
блемі [див. огляд 8].

у вивченні цитохімічними
алергенів на білкові, ліпід-
гранулоцитів крові хво-
у вусі. Для оцінки порів-
судити про резистентність
ергенів, була застосована
нтрастом виявляє ядерну
ально флуорохромованих

них захворювань (стрепто-
ж постановка внутрішкірних
нашій лабораторії [1, 2]. Ре-
сь так: шляхом відстоювання
тарного лейкоцитного шару
гранулоцитами. Останню роз-
одавали 0,1 мл фізіологічного
в у слабкій мірі сенсibilізо-
на найбільш слабка сповіль-
гену, до якого хворий був
найбільш виражену сповіль-
нення алергенів застосовували
перемішування інгредієнтів
-20 годин. Слідом за інкуба-
предметних скельцях і один
рохромовування. Мазки фар-
вий синій [6], на ліпіді су-
м Шіфф — періодна кисло-
акридин оранжевий [3].
лікогену судили на підставі
італьних препаратах визна-

Результати досліджень

У 30 хворих на хронічний гнійний отит був досліджений ушкоджу-
ючий ефект алергенів на гранулоцитарні лейкоцити. Одержані резуль-
тати наведені в таблиці.

Результати взаємодії сенсibilізованих гранулоцитарних лейкоцитів
з гомологічними алергенами

Реагент, який додають до лейкоцитарної наважки	Сумарний білок		Ліпіди	
	$\bar{X} \pm S$	p	$\bar{X} \pm S$	p
Фізіологічний розчин	$0,98 \pm 0,30$	$p_{1-2} 0,10$	$0,97 \pm 0,14$	$p_{1-2} 0,10$
Алерген, який викликає найбільш слабку шкірну реакцію	$0,91 \pm 0,28$	$p_{2-3} 0,10$	$0,95 \pm 0,12$	$p_{2-3} 0,001$
Алерген, який викликає найбільш сильну шкірну реакцію	$0,91 \pm 0,28$	$p_{1-3} 0,10$	$0,87 \pm 0,15$	$p_{1-3} 0,001$

Реагент, який додають до лейкоцитарної наважки	Вуглеводи (глікоген)		Кількість клітин (%), що руйнуються	
	$\bar{X} \pm S$	p	$\bar{X} \pm S$	p
Фізіологічний розчин	$1,10 \pm 0,15$	$p_{1-2} 0,001$	$20,4 \pm 13,4\%$	$p_{1-2} 0,01$
Алерген, який викликає найбільш слабку шкірну реакцію	$0,86 \pm 0,14$	$p_{2-3} 0,05$	$27,0 \pm 15,9\%$	$p_{2-3} 0,10$
Алерген, який викликає найбільш сильну шкірну реакцію	$0,80 \pm 0,16$	$p_{1-3} 0,001$	$29,1 \pm 15,3\%$	$p_{1-3} 0,001$

Як видно з таблиці, встановлена відсутність різниці у вмісті су-
марного білка в клітинах, підданих впливу фізіологічного розчину,
алергену, до якого сенсibilізація була слабкою, та алергену, до якого
сенсibilізація була вираженою. Не виявлено різниці у вмісті ліпідів
у лейкоцитах, що взаємодіяли з фізіологічним розчином та алергеном,
до якого сенсibilізація у хворого була слабкою. Однак контакт лейко-
цитарних клітин з алергеном, до якого була виражена сенсibilізація,
призводив до істотного зменшення вмісту ліпідів у цитоплазмі. Відзна-
чається зменшення вмісту глікогену в клітинах при додаванні алерге-
нів у порівнянні з контрольними препаратами, причому додавання
алергену, до якого була виражена сенсibilізація, супроводжувалось
більш різким зниженням показника глікогену.

При вивченні вітальних препаратів виявлена більша ушкоджуюча
дія алергенів на лейкоцити в порівнянні з фізіологічним розчином, при
цьому різниця в кількості клітин, що руйнуються, в препаратах з різ-
ними алергенами статистично не достовірна. В лейкоцитах, що руйную-
ться, спостерігались ознаки підвищення проникності мембран. Так, в
зв'язку з набуханням цитоплазми, збільшуються розміри клітин. Під-
вищення проникності ядерної оболонки і набухання ядра проявляються
у втраті сегментарної будови, збільшенні розмірів і виходу ядерної ре-
човини (це визначається за характерним зеленим свіченням ДНК) в
цитоплазму. В таких клітинах також не видно гранул, які в неушко-
джених гранулоцитах легко визначаються за яскравим червоним сві-
ченням РНК.

Обговорення результатів досліджень

Тепер встановлено, що імунний цитоліз — тип ушкодження, спільний для всіх клітинних елементів. Одним з найбільш ранніх проявів такого ушкодження є утворення характерних отворів у клітинних мембранах, які зумовлюють підвищення проникності останніх і вихід з клітин різних речовин [14, 19]. Зміни в проникності можуть бути вивчені реєстрацією «витікання» тих чи інших матеріалів [13].

Показано, що сенсibilізовані гранулоцити фагоцитують гомологічний алерген або комплекси антиген — антитіло і що такий фагоцитоз, на відміну від нормального, веде до клітинної загибелі [10]. Вважають, що спостережувана при цьому дегрануляція залежить від ушкодження мембран гранул і виходу за їх межі кислих гідролаз, які відзначаються аутолітичними властивостями [10, 11, 12].

Ви вивчили ушкоджуючу дію алергенів на сенсibilізовані лейкоцити у вітальних препаратах. В клітинах, що руйнуються, виявлені ознаки підвищеної проникності мембран і дегрануляція цитоплазми. Тому зменшення кількості глікогену і ліпідів у гранулоцитах, ушкоджуваних алергічною реакцією, можна пояснити в рівній мірі як виходом цих речовин за межі клітини через цитоплазматичну мембрану, яка стала проникною, так і аутолітичною дією внутріклітинних ферментів.

Проте, описані вище механізми не можуть пояснити, чому алерген, який дає найбільш інтенсивну шкірну реакцію, викликає найбільш виражене зменшення вмісту глікогену і знижує вміст ліпідів. Якщо б зменшення глікогену і ліпідів залежало тільки від посиленого «витікання» через проникні мембрани та аутолізу, то у вітальних препаратах цей алерген викликав би відповідно більш значне підвищення проникності мембран і більш сильну дегрануляцію, чого ми не спостерігали. Тому є підстави для припущення, що зменшення в клітинах вмісту глікогену і ліпідів може залежати також від посиленої їх утилізації ушкодженою клітиною, оскільки глікоген є основним енергетичним матеріалом для гранулоцитів, а посилений транспорт крізь мембрану супроводжується підвищенням ліпідного обміну [8].

Висновки

1. Контакт сенсibilізованих гранулоцитів з гомологічними алергенами веде до зменшення вмісту в клітинах глікогену і не впливає на кількість сумарних цитоплазматичних білків.

2. Ступінь зменшення вмісту глікогену пропорціональний рівню сенсibilізації, яка виявляється за допомогою шкірних проб.

3. Лише ті алергени, які викликають інтенсивні шкірні реакції, приводять до зменшення вмісту ліпідів.

Література

1. Вершигора А. Е. — Лабор. дело, 1966, 2, 102.
2. Вершигора А. Е., Сидоренко Е. Н. — Врач. дело, 1965, 10, 94.
3. Закржевский Е. Б., Васильева Л. Г. — Люминесцентная микроскопия в клинико-гематологических исследованиях, Л., 1963.
4. Шварцман В. Е. — Лабор. дело, 1965, 6, 343.
5. Astaldi G., Verga L. — Acta Hematol., 1957, 17, 3, 129.
6. Bonhag P. F. — Цит. за Э. Пирс «Гистохимия», М., 1962.
7. Chase M. W. — Proc. Soc. Exp. N. Y., 1945, 59, 2, 134.
8. Cline M. S. — Physiol. Rev., 1965, 45, 4, 674.

9. Cochrane Ch. G., Wei 3, 481.
10. Daems W. Th., Oort J. —
11. de Duve Ch. — В кн.: Lys
12. Hirsh J. G., Bernheir 118, 2, 223.
13. Holmberg B. — Exp., Cell
14. Humphrey J. H., Dou 175.
15. Lawrence H. S. — J. Clin
16. Lison Z. — Цит. за Б. Р
17. Miescher P. — В кн.: Im
18. Waksman B. H. — В кн. N. Y., 1959, 123.
19. Winn H. J. — В кн.: Compl

Про зміни іноут у хворих на гіперт

Кафедри терапії І і неврології

При пропусканні цих хворих на гіпертонічну хворобу спостерігали позитивну вазопресином, інші [11]. Але переважна більшість властивість крові збільш подібних речовин типу с тільки не відзначено під хворих на гіпертонічну. В літературі є дані про люється не тільки симпа

Якщо обійти питання воно виходить за межі ти, що ця дія ніким не них, може змінюватися і

Так, описано зниж хворих на гіпертонічну дорних і яблучних днів ного медикаментозного

Виходячи з цього, активність сироватки к біотрона з його стабіль рів (барометричного т повітря тощо).

З цієї метою на ізолі слідували сироватку крові 61 років, серед яких було (рапії АМН СРСР з ІА ста 2Б — 20 хворих. Для контро

Спочатку хворі перебу в палатах біотрона. Менше нічна група), а більша част