

9. Cline M. J. Plasma kinins and cortisol: a possible explanation of the anti-inflammatory action of cortisol.— Science, 1966, 153, p. 1135—1138.
10. Frey E. K., Kraut H., Werle E. et al. Das kallikrein-kinin system und seine inhibatoren. Stuttgart, Enke Verlag, 1968. 376 S.
11. Harris M. C. Release of the antidiuretic hormone by bradykinin in rats.— Pharm. Res. Commun., 1969, N 2, p. 161.
12. Jacobson E. D. Effect of bradykinin on the kidney and gastrointestinal organs.— In: Handbook of Experimental Pharmacol. Berlin, 1970, 25, p. 385—388.
13. Rocha e Silva M., Malnic G. Release of antidiuretic hormone (ADH) by bradykinin.— J. Pharm. exp. Therap., 1964, 146, N 1, p. 24—32.
14. Stürmer E., Berde B. Kallidin u. Bradikinin. Vergleichende pharmakologische Untersuchungen.— Arch. exp. Path. Pharm., 1962, 243, p. 355—356.

Одесский медицинский институт
Всесоюзный селекционно-генетический институт, Одесса

Поступила в редакцию
9. XI 1978 г.

УДК 616.002.1:576.8.097.32:612.015.12

Р. У. Липшиц, А. П. Белозоров

ЭКЗОЦИТОЗ ФЕРМЕНТОВ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ГИПЕРЕРГИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

В патогенезе острого воспаления большое значение принадлежит лизосомальным факторам нейтрофилов, выполняющим функцию медиаторов воспалительной реакции. К ним относятся кислые и нейтральные протеазы, эластаза, коллагеназа, кининообразующие и гиалуронидазоподобные ферменты, катионные белки, медленно реагирующее вещество, сходное с простагландинами, анионное вещество и др. Выделение этих медиаторов в очаге воспаления оказывает повреждающее действие на основное вещество соединительной ткани и терминальное сосудистое ложе, повышает проницаемость сосудов, вызывает образование или выделение других медиаторов воспаления — гистамина, кининов, активацию комплемента. Литературные данные свидетельствуют о повышении активности лизосомальных ферментов в очаге воспаления [1, 5]. Экзоцитоз лизосомальных ферментов — проявление активной клеточной функции. Показана связь процессов экзоцитоза с внутриклеточной концентрацией цАМФ и цГМФ.

В настоящее время изучено, главным образом, выделение лизосомальных ферментов из лейкоцитов экссудата. В литературе нет данных о процессах экзоцитоза из лейкоцитов периферической крови при гиперергическом воспалении. В связи с этим было предпринято изучение спонтанного и индуцированного выделения лизосомальных ферментов из лейкоцитов, полученных из периферической крови животных с экспериментально вызванным гиперергическим воспалением.

Методика исследований

Исследование проведено на 32 кроликах весом 1,7—2,3 кг. Животных сенсibilizировали повторными внутрикожными инъекциями 3,0 мл нормальной лошадиной сыворотки с интервалом 5 дней. Разрешающей инъекцией служила 3—5 инъекция сыворотки, после которой обычно развивался феномен Артюса. Выделение лейкоцитов периферической крови производилось по Хенсону [7]. Из краевой вены уха получали 10 мл крови в 3,5 мл смеси 3,7 % ЭДТА (2 части) и физиологического раствора (5 частей), добавляли 10 мл 3 % желатина и через 20 мин после осаждения эритроцитов отделяли взвесь лейкоцитов в плазме и центрифугировали при 400 g 10 мин. Эритроциты гемолизировали взвешиванием осадка в 0,87 % растворе NH_4Cl с pH 7,2. Через 5 мин пробы центрифугировали 10 мин при 200 g. Последующая обработка производилась при 4 °C. Лейкоциты отмывали смесью физиологического раствора с фосфатным буфером и взвешивали в концентрации $2 \cdot 10^7$ клеток в мл раствора Тироде с pH 7,2, содержащем 0,01 M Трис-буфера, $5 \cdot 10^{-3}$ M глюкозы и 0,25 % бычьего сывороточного альбумина. Стимуляция экзоцитоза производилась опсонизированным зимозаном. Зимозан отмыва-

что метод Лоури—Покровского, основанный на гидролизе *p*-нитрофенилфосфата, определяет не только лизосомальную 2β-глицерофосфатазу, но и неспецифические фосфатазы, локализующиеся в микросомальной фракции и плазматической мембране [3]. За счет фосфатаз, не связанных с лизосомами, выделившаяся из клетки активность оказывается заниженной, поскольку она выражается в процентах от общей активности.

Усиление спонтанного выделения ферментов лизосом из лейкоцитов может быть следствием: 1) активации процессов экзоцитоза или 2) повышения проницаемости клеточных мембран в результате повреждения клетки. Большая выраженность изменений со стороны специфического маркера лизосомальных ферментов β-глюкуронидазы по сравнению с кислой фосфатазой позволяет предположить, что спонтанное выделение ферментов связано с активацией экзоцитоза.

Причиной активации экзоцитоза в лейкоцитах периферической крови при гиперергическом воспалении может быть неспецифический эффект воспалительной реакции, а также связанные с феноменом Артюса действие иммунных комплексов или активация системы комплемента.

По-видимому, основным источником ферментов являются псевдоэозинофилы, составляющие более 50 % в лейкоцитарной взвеси, наряду с 25—30 % лимфоцитов и 10 % моноцитов.

Снижение индуцированного высвобождения ферментов можно объяснить тем, что активированные *in vivo* лейкоциты не отвечают на дополнительное стимулирующее воздействие частиц зимозана.

Выводы

1. При гиперергическом воспалении — феномене Артюса лейкоциты периферической крови, инкубированные *in vitro*, спонтанно высвобождают лизосомальные ферменты — β-глюкуронидазу и кислую фосфатазу. Спонтанный экзоцитоз выражен в большей степени со стороны β-глюкуронидазы и связан, по-видимому, с активацией лейкоцитов периферической крови.

2. Одновременно с повышением спонтанного экзоцитоза отмечается снижение экзоцитоза, индуцированного опсонизированным зимозаном. По-видимому, это связано с тем, что стимулированные *in vivo* лейкоциты не отвечают на дополнительное стимулирующее воздействие зимозана.

Литература

1. Липиц Р. У., Белозоров А. П. Кислая фосфатаза и β-глюкуронидаза в очаге гиперергического воспаления. — Иммунология и аллергология, Киев, 1977, с. 119—121.
2. Покровский А. А. (ред.) Биохимические методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1969, 652 с.
3. Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 382 с.
4. Урбах В. Ю. Биометрические методы. М.: Наука, 415 с.
5. Ammendola G., Di Rosa M., Sorrentino L. Leucocyte migration and lysosomal enzymes release in rat carrageenin pleurisy. — Agents and Actions, 1975, N 5/3, p. 250—255.
6. Talalay P., Fishman W. H., Huggins C. Chromogenic substances: II. Phenolphthalein glucuronic acid as substrate for the assay of glucuronidase activity. — J. Biol. Chem., 1946, 166, p. 754—773.
7. Henson P. M., Oades Z. G., Stimulation of human neutrophils by soluble and insoluble immunoglobulin aggregates. — J. Clin. Invest. 1975, 56, p. 1053—1061.

Кафедра патологической физиологии
Харьковского медицинского института

Поступила в редакцию
5.VII 1978 г.