

ВЛИЯНИЕ ПОЛИГЛЮКИНА НА ТКАНЕВЫЕ БАЗОФИЛЫ КРЫС

Результаты экспериментальных исследований показали, что введение крысам декстрана — вещества, способствующего высвобождению вазоактивных медиаторов [8], вызывает массивную дегрануляцию тканевых базофилов и образование отека [7], который используется в качестве модели быстро возникающей отечной реакции [6]. В то же время имеются данные о различной выраженности действия его *in vitro* и *in vivo* [12]. Это послужило основанием для проведения нашей работы с целью углубленного изучения особенностей механизма воздействия полиглюкина (декстрана молекулярной массой $60\,000 \pm 10\,000$ Д) на клетки-мишени. Для этого с помощью комплекса методик (биохимической, гистологической и патофизиологической) было изучено его влияние на функциональную активность тканевых базофилов различной локализации в зависимости от способа и дозы введенного вещества.

Методика

Опыты проведены на крысах линии Вистар. В экспериментах *in vivo* использованы крысы обоего пола массой 65—150 г. Более крупных (массой 350 г) крыс-самцов использовали при постановке опытов *in vitro*, в которых спектрофлуориметрическим методом изучали высвобождение гистамина тканевыми базофилами после обработки их растворами полиглюкина различной концентрации. Взвесь базофилов из тканей грудной и брюшной полостей получали путем создания градиента плотности фикола (построение опытов, приготовление буферных растворов и определение высвободившегося гистамина осуществляли согласно описанным ранее методикам [2, 3]). В полученной взвеси базофилов составляли 85—95 % всех клеточных элементов. Тканевые базофилы инкубировали в течение 15 мин при 37 °С в фосфатном буфере Sörengen (20 мкл; pH 7,4) с добавлением сывороточного альбумина человека (1 мг/мл; фирма «Reanal», Венгрия) и кальция (1 ммоль).

В инкубационную среду опытных проб добавляли также полиглюкин, концентрация которого составляла 0,05—6 %. После внесения в среду вещества 48/80 клетки инкубировали еще 5 мин при тех же условиях. Реакцию останавливали помещением пробирок на лед. Порции клеток центрифугировали (400 g) в течение 10 мин при 4 °С, надосадочную жидкость отделяли и клетки разрушали добавлением дистиллированной воды и встряхиванием в супермиксере. Надосадочную жидкость и клеточные лизаты (по 200 мкл) использовали для определения гистамина, меру высвобождения которого выражали в процентах его общего содержания в порции клеток. Спонтанное высвобождение гистамина в опытах составляло 4,15 %. Полиглюкин в использованных концентрациях не влиял на реакцию определения гистамина.

В одной серии экспериментов *in vivo* изучали влияние внутрибрюшинного и внутривенного способов введения полиглюкина на тканевые базофилы различной локализации. Исследование проведено на 4 группах крыс по 6 животных в каждой. Препарат (6 %-ный его раствор) вводили внутрибрюшинно и внутривенно по 1 мл. Крысам контрольных групп вместо раствора полиглюкина вводили 0,9 %-ный раствор хлористого натрия. Через 15 мин после введения препаратов животные получали легкий эфирный наркоз, затем их декапитировали, вводили внутрибрюшинно 4 мл Sörensens-фосфатного буфера (pH 6,0) без добавления ионов кальция и сывороточного альбумина человека, производили массаж брюшной стенки в течение 1 мин, вскрывали брюшную полость, собирали взвесь перитонеальных клеток. Для гистологического исследования готовили препараты из тканей брыжейки, а также передней и задней лапок. Часть перитонеальных клеток, непосредственно после получения, окрашивали 0,3—0,5 %-ным спиртовым раствором нейтрального красного и определяли процент дегранулировавшихся тканевых базофилов. Достоверность полученных результатов оценивали по среднему квадратическому отклонению данных [1]. Материал, взятый на гистологическое исследование, фиксировали 10 %-ным раствором формалина, забуференным по Lyllie, обезжизивали с помощью спиртов восходящей концентрации, заключали в парафин. Гистологические срезы окрашивали азуром и еозином [5]. Микроскопическое исследование тканевых базо-

филов осуществляли при 100х в 50 — на препаратах брыж.

В другой серии экспериментов изучали влияние полиглюкина на разв. базофилов. Для сравнения изучали действие серотонина (405,43 Д; фирма «Reanal», Венгрия), на которых испытывали. Препараты (по 0,05 мл) вводили в лапки животных. О мере разв. относительно исходной. Тол. и через 15, 30 и 60 мин после введения полученных данных провод.

Результаты исследований (0,05—6 %-ная концентрация) показали, что при 15 мин перитонеальных и пле. базофилов полиглюкином не оказывало на их способность высвободить 48/80.

Однако 6 %-ный раствор полиглюкина *in vivo* вызывает дегрануляцию тканевых базофилов опытных животных (при внутрибрюшинном и внутривенном введении). Процент дегранулировавшихся тканевых базофилов брыж.

Сходная закономерность наблюдается и при введении тканевых базофилов в раствор полиглюкина. Повышение процента дегранулировавшихся клеток (по сравнению с контролем) наблюдается и при внутривенном введении, но не от.

Как видно из рисунка, вызываемой раствором полиглюкина закономерностей. Так, при введении 0,005—0,01 %-ной концентрации полиглюкина достоверно вызывалось дегрануляция в течение 15 минут. В дальнейшем дегрануляция или сохранялась в течение 30 минут. Введение раствора 0,005—0,05 %-ной концентрации полиглюкина вызывало дегрануляцию в течение 15 минут, но не изменялось в течение 30 минут. Только 0,1 %-ная концентрация полиглюкина вызывает дегрануляцию, которая начинает спадать.

По данным литературы, в месте введения связывающего вещества высвобождением из них отека возрастает с увеличением объема. Максимальный эффект сохраняется еще 0,1 мг, а для серотонина исследования эти значения (0,1 %-ный раствор), а



Л. П. Бабенко

БАЗОФИЛЫ КРЫС

Вань показали, что введение высвобождению сивную дегрануляцию тка-оторый используется в кареакции [6]. В то же вреости действия его *in vitro* для проведения нашей ранностей механизма воздей-массой $60\,000 \pm 10\,000$ Д) омплекса методик (биохи-ческой) было изучено его иневых базофилов различ-дозы введенного вещества.

В экспериментах *in vivo* использованы (массой 350 г) крысы-самцы исполь-трофлюориметрическим методом ами после обработки их раство-азофилов из тканей грудной и плотности фикола (построение ие высвободившегося гистамина [3]). В полученной взвеси базо-каневые базофилы инкубировали (реп (20 мкл; pH 7,4) с добавле-рма «Reanal», Венгрия) и каль-

Также полиглюкин, концентрация вещества 48/80 клетки инкуби-авливали помещением пробирок ние 10 мин при 4°C , надосадо-нием дистиллированной воды и сть и клеточные лизаты (по ру высвобождения которого вы-леток. Спонтанное высвобожде-в использованных концентраци-

Введение внутрибрюшинного и внут-базофилы различной локализа-животных в каждой. Препарат ривенно по 1 мл. Крысам конт-0,9 %-ный раствор хлористого тные получали легкий эфирный инно 4 мл Sørensen-фосфатного ротоного альбумина человека, скрывали брюшную полость, со-еского исследования готовили дней лапок. Часть перитонеаль-зали 0,3—0,5 %-ным спиртовым т дегранулировавших тканевых авали по среднему квадратичес-ологическое исследование, фик-м по Lyllie, обезвоживали с по-парафин. Гистологические сре-е исследование тканевых базо-

филов осуществляли при увеличении $40\times$ в 20 полях зрения на препаратах лапок, а в 50 — на препаратах брыжейки.

В другой серии экспериментов *in vitro* исследовали влияние 0,005—6 %-ного раствора полиглюкина на развитие отека стоп, обусловленного медиаторами тканевых базофилов. Для сравнения изучали реакцию, возникающую после введения 0,0001—0,05 %-ного раствора серотонина (серотонин-креатинин сернокислый молекулярной массой 405,43 Д; фирма «Reanal», Венгрия). Было взято 7 групп животных по 10 крыс в каждой, на которых испытывали действие растворов изучаемых веществ разной концентрации. Препараты (по 0,05 мл) вводили под подошвенный апоневроз в правые и левые лапки животных. О мере развития отечной реакции судили по увеличению толщины стоп относительно исходной. Толщину стоп измеряли с помощью микрометра до начала опыта и через 15, 30 и 60 мин после введения изучаемых растворов. Статистическую обработку полученных данных проводили разностным методом [1].

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования *in vitro* показали, что полиглюкин (0,05—6 %-ная концентрация) не обладает гистамин-высвобождающими свойствами при 15-минутной инкубации в нем тканевых базофилов перитонеальных и плевральных полостей крыс. Обработка клеток полиглюкином не оказывает также статистически достоверного влияния на их способность высвобождать гистамин под действием вещества 48/80.

Однако 6 %-ный раствор полиглюкина через 15 мин после инъекции *in vivo* вызывает достоверное ($P < 0,01$) повышение процента дегранулировавшихся тканевых базофилов во взвеси перитонеальных клеток опытных животных (по сравнению с контролем) в среднем на 27,49 % при внутрибрюшинном и на 30,43 % при внутривенном введении. Внутривенное введение полиглюкина достоверно ($P < 0,05$) повышает процент дегранулировавшихся клеток в брыжейке в среднем на 14 %, внутрибрюшинная — не проявляет дегранулирующего действия на тканевые базофилы брыжейки.

Сходная закономерность отмечена и при гистологическом исследовании тканевых базофилов соединительной ткани лапок. Так, 6 %-ный раствор полиглюкина через 15 мин вызывает достоверное ($P < 0,01$) повышение процента дегранулировавшихся клеток у опытных животных (по сравнению с контролем) в среднем на 24,8 % при внутривенном введении, но не оказывает достоверного воздействия на этот процесс при внутрибрюшинном.

Как видно из рисунков 1 и 2, динамика развития отечной реакции, вызываемой растворами полиглюкина и серотонина, имеет ряд общих закономерностей. Так, введение в стопы животным растворов полиглюкина 0,005—0,01 %-ной концентрации, а серотонина 0,0001—0,001 %-ной достоверно вызывает максимальный прирост толщины стоп на 15-й минуте. В дальнейшем отек уменьшается в течение всего времени исследования или сохраняется в пределах значения, достигнутого к 30-й минуте. Введение растворов полиглюкина и серотонина 0,5—6,0 %-ной и 0,005—0,05 %-ной концентраций соответственно приводит к развитию отека, достоверно достигающего максимального значения к 15-й и 30-й минутам, но не изменяющегося затем до момента окончания исследования. Только 0,1 %-ная концентрация полиглюкина вызывает отек, который начинает спадать спустя 30 мин после введения дегранулятора.

По данным литературы провоспалительное действие декстрана при местном введении связывается с повреждением тканевых базофилов и высвобождением из них гистамина и серотонина, причем интенсивность отека возрастает с увеличением массы вводимого вещества в определенном объеме. Максимальная масса вводимых препаратов, при которых еще сохраняется эта закономерность, для декстрана составляет 0,1 мг, а для серотонина — 0,5 мг в 0,1 мл [6]. По результатам наших исследований эти значения составляют для полиглюкина 0,05 мг (0,1 %-ный раствор), а для серотонина (в пересчете на чистый серото-

нин) ~ 0,004 мг (0,001 %-ный раствор серотонин-креатинина сернокислого) в 0,05 мл. Последнее согласуется с результатами, полученными другими авторами [11]. При превышении этих концентраций отек, достигнув своего максимального размера, не проявляет тенденции к снижению в течение 1 ч исследования. Наряду с этим известно, что сами по себе медиаторы воспаления действуют в течение 10—20 мин [4]. Исходя из этого, можно предположить, что полиглюкин (значительная его концентрация) не успевает выводиться из места введения за вре-

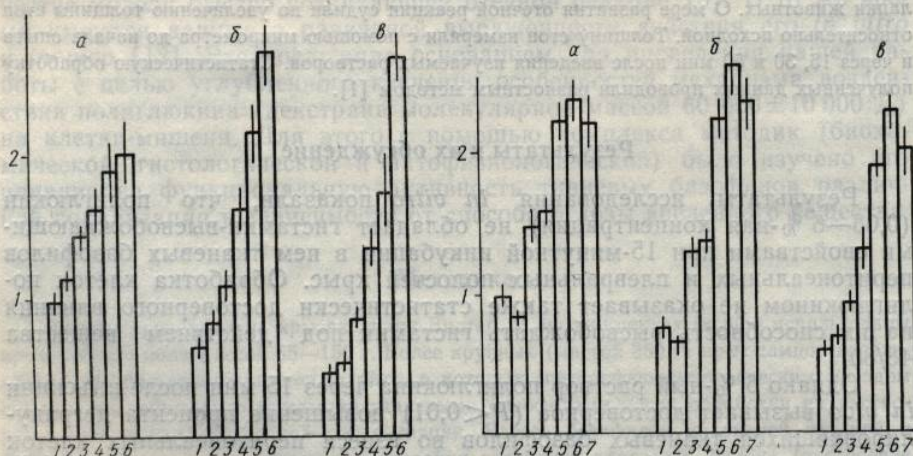


Рис. 1. Прирост толщины стоп (в миллиметрах) через:

а — 15, б — 30, в — 60 мин после введения 0,005 %-ного (1), 0,01 %-ного (2), 0,1 %-ного (3), 0,5 %-ного (4), 1 %-ного (5), 5 %-ного (6) и 6 %-ного (7) раствора полиглюкина.

Рис. 2. Прирост толщины стоп (в миллиметрах) через:

а — 15 мин, б — 30, в — 60 мин 0,0001 %-ного (1), 0,0005 %-ного (2), 0,001 %-ного (3), 0,005 %-ного (4), 0,01 %-ного (5), 0,05 %-ного (6) раствора серотонина.

мя эксперимента и своим присутствием стимулирует воспалительную реакцию. Однако имеется выраженный параллелизм динамики декстранового и серотонинового отеков. Известно, что высвободившийся из депо серотонин быстро подвергается инактивации: за 3 ч обновляется половина всего циркулирующего серотонина [10], и это происходит при том, что только в 1×10^6 перитонеальных тканевых базофилах крыс его содержание составляет 0,2—6 мкг [9]. Следовательно, вероятнее связать изменение динамики серотонинового и полиглюкинового отеков при высокой концентрации введенных веществ с включением каких-то дополнительных механизмов развития отечной реакции. Это предположение подтверждается полученными нами данными, показывающими, что 6 %-ный раствор полиглюкина по-разному влияет на тканевые базофилы перитонеальной жидкости при применении его *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, внутривенное введение этого же раствора препарата вызывает дегрануляцию тканевых базофилов, локализованных в различных тканях, в то время как внутрибрюшинное — только в одной. На основании этих результатов правомочным будет предположение, что действие полиглюкина на тканевые базофилы осуществляется не прямо, а опосредованно, причем в этом, вероятно, участвуют какие-то компоненты, содержащиеся в крови. Учитывая динамику развития отечной реакции, при изучении влияния полиглюкина на тканевые базофилы крыс *in vivo* необходимо использовать растворы препарата не выше 0,1 %-ной концентрации, так как несоблюдение этого условия может привести к искажению полученных результатов.

1. Полиглюкин (вом, высвобождающи тканевых базофилов в опытах *in vitro*.

2. Динамика раз на таковой, обусловле

3. При внутривен на обуславливает де ткани, брыжейки и пе

4. Внутривенно зывает дегрануляцию

S. V. Timchenko

THE EFFECT

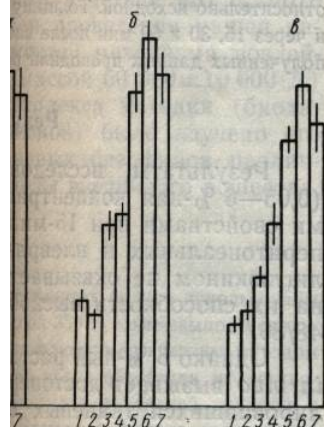
0,05 %-6 % dextran M activity of tissue basophils injected intravenously reliable peritoneal liquid, mesenteric this preparation has such as mics of feet edematization It is possible to suggest that

A. I. Kolomiichenko Institute of Endocrinology and

1. Бирюкова Р. Н. Статистика усовершенствований в экспериментальной физиологии и патологии. — Киев: Знание, 1975. — 128 с.
2. Гуцун И. С., Фредхольм В. Выведение гистамина из организма. — Патол. физиология и экспериментальная медицина. — 1974. — 48: 1-10.
3. Гуцун И. С. Действие гистамина на организм. — Киев: Знание, 1975. — 128 с.
4. Мовэт Г. Острое воспаление. — М.: Медицина, 1975. — 288 с.
5. Твердынин М. С., Чернышова Л. В. Черепно-мозговые срезы // Арх. патол. анат. и гистол. — 1975. — 54: 1-10.
6. Тринус Ф. П., Мохорт В. В. Средства. — Киев: Здоров'я, 1975. — 128 с.
7. Юсин В. А., Шкапина Л. В. Сосудисто-тканевая проницаемость. — Киев: Знание, 1975. — 128 с.
8. Hedin H. Dextran induced edema in vivo studies // — Uppsala J. Med. Sci. — 1974. — 74: 1-10.
9. Levy D. A. Histamine and its release. — P. 141-161.
10. Ravins A. La serotonine et le sang. — P. 1616-1619.
11. Uda K., Takeuchi Y. Localized Permeability // Proc. Jpn. Acad. — 1974. — 50: 1-10.
12. West G. B. Ethylenediamine and its effect on cells // Int. Arch. Allergy. — 1974. — 45: 1-10.

Киев. ин-т отоларингологии им. А. И. Колосовского М. Киев. ин-т эндокринологии и обмена веществ МЗ УССР

отонин-креатинина серно-
результатами, полученны-
и этих концентраций отек,
е проявляет тенденцию к
ду с этим известно, что са-
в течение 10—20 мин [4].
полиглюкин (значительная
из места введения за вре-



иметрах) через:
1), 0,01 %-ного (2), 0,1 %-ного (3),
(7) раствора полиглюкина.

иметрах) через:
о (2), 0,001 %-ного (3), 0,005 %-ного
ра серотонина.

мулирует воспалительную
мелелизм динамики декст-
, что высвободившийся из
зации: за 3 ч обновляется
[10], и это происходит при
невых базофилах крыс его
овательно, вероятнее свя-
полиглюкинового отеков
гв с включением каких-то
ой реакции. Это предполо-
анными, показывающими,
у влияет на тканевые ба-
нении его *in vitro* и *in vivo*.
раствора препарата вызы-
ализованных в различных
олько в одной. На основа-
едположение, что действие
вяжется не прямо, а опо-
уют какие-то компоненты,
развития отеочной реакции,
невые базофилы крыс *in*
арата не выше 0,1 %-ной
словия может привести к

Выводы

1. Полиглюкин (0,05—6 %-ная концентрация) не является веществом, высвобождающим гистамин из перитонеальных и плевральных тканевых базофилов крыс и не изменяет их реакцию на вещество 48/80 в опытах *in vitro*.
2. Динамика развития полиглюкинового отека стоп у крыс подобна таковой, обусловленной серотонином.
3. При внутривенном введении 6 %-ная концентрация полиглюкина обуславливает дегрануляцию тканевых базофилов соединительной ткани, брыжейки и перитонеальной жидкости крыс.
4. Внутривенное введение 6 %-ного раствора полиглюкина вызывает дегрануляцию только перитонеальных тканевых базофилов.

S. V. Timchenko, S. V. Pokrovskaya, L. P. Babenko

THE EFFECT OF POLYGLUCINE ON THE TISSUE BAZOPHILS IN RATS

0,05 %-6 % dextran M 60 000±10 000 concentration has no effect on the functional activity of tissue basophils in Wistar rats *in vitro*. 6 % concentration of polyglucine injected intravenously reliably increases the amount of degranulated mast cells in the peritoneal liquid, mesentary and connective tissue of feet. Being intraperitoneally injected this preparation has such an effect only on tissue basophils in the peritoneal liquid. Dynamics of feet edematization depends on the amount of dextran and serotonin injected. It is possible to suggest that dextran indirectly affect mast cells *in vitro*.

A. I. Kolomiichenko Institute of Otorhinolaryngology, Kiev;
Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev

1. Бирюкова Р. Н. Статистика в клинических исследованиях.— М.: МЗ СССР и Центр. ин-та усовершенствования врачей, 1964.—130 с.
2. Гуцин И. С., Фредхольм Б., Увнас Б. Действие папаверина и простагландина E₁ на вызванное веществом 48/80 высвобождение гистамина из тучных клеток крыс // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1975.— № 6.— С. 3—12.
3. Гуцин И. С. Действие простагландина E₁ и папаверина на анафилактическое высвобождение гистамина из тучных клеток // Там же.— 1977.— № 1.— С. 32—35.
4. Мовэт Г. Острое воспаление // Воспаление, иммунитет и гиперчувствительность.— М.: Медицина, 1975.— С. 9—128.
5. Твердынин М. С., Чернышева Е. С. К методике окраски азур-эозином гистологических срезов // Арх. патологии.— 1972.— № 6.— С. 80—81.
6. Тринус Ф. П., Мохоут Н. А., Клебанов Б. М. Нестероидные противовоспалительные средства.— Киев: Здоров'я, 1975.—240 с.
7. Юсин В. А., Шкапина В. А., Костенко М. С. Действие декстрана на тучные клетки и сосудисто-тканевую проницаемость // Тр. Смолен. мед. ин-та.— 1968.— Т. 26.— С. 39—41.
8. Hedin H. Dextran induced anaphylactoid reactions in man. Immunological *in vitro* and *in vivo* studies //— Uppsala.— 1977.—44 p.
9. Levy D. A. Histamine and serotonin // Mediators of Inflammation.— New York; London, 1974.— P. 141—161.
10. Ravins A. La serotonine et ses antagoniste // La Presse Med.— 1962.—70, N 33.— P. 1616—1619.
11. Uda K., Takeuchi Y., Movat H. Z. Simple Method for Quantitation of Enhanced Vascular Permeability // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.— 1970.—133, N 4.— P. 1384—1387.
12. West G. B. Ethylenediamine tetraacetic acid and histamine release from rat mast cells // Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol.— 1982.—68, N 4.— P. 399—401.

Киев. ин-т отоларингологии
им. А. И. Колумийченко МЗ УССР;
Киев. ин-т эндокринологии
и обмена веществ МЗ УССР

Поступила 03.12.84