

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК КРЫС ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИЙ СПЛЕНИНА

Препарат спленин, изготавливаемый из селезенки крупного рогатого скота, в настоящее время широко применяется в клинической практике для лечения некоторых аллергических заболеваний у детей и взрослых [5, 7, 10]. В частности, хороший эффект наблюдается при проведении курса спленинотерапии у детей с аллергическими формами дерматозов (экзема, нейродермит, крапивница), бронхиальной астмой, вазомоторным аллергическим ринитом [6, 10, 12]. Имеется также большой экспериментальный материал, свидетельствующий о том, что введение спленина ингибирует проявление реакций немедленной гиперчувствительности у крыс, морских свинок и кроликов [8, 9, 10]. Для понимания механизма противоаллергического действия спленина особый интерес представляют работы, в которых отмечено снижение после инъекций препарата повышенной концентрации гистамина в крови у больных аллергиями [6, 7].

Было показано, что спленин *in vitro* способствует дозозависимому высвобождению гистамина из тучных клеток — основных продуцентов медиаторов аллергических реакций. Но при этом он подавляет высвобождение из тучных клеток гистамина при воздействии на них специфического либератора этого амина — вещества 48/80.

В настоящей работе поставлена задача изучить влияние парентерального введения спленина на функциональное состояние тучных клеток у крыс и попытаться сопоставить результаты исследований с данными, полученными на системе *in vitro* с целью более глубокого понимания механизма противоаллергического действия препарата.

Методика

Работа проведена на 35 крысах-самцах линии Вистар массой 300 г. Выделение из плевральной и брюшной полостей тучных клеток, условия их инкубации, приготовление буферных растворов, флюориметрическое определение гистамина проводились так, как описано Гуциным [1]. Во всех опытах спонтанное высвобождение гистамина из тучных клеток не превышало 10 %. Собственно концентрат спленина или концентрат, разведенный физиологическим раствором 1:4, вводили животным внутримышечно по различным схемам: 1-я — по 0,25 мл на 100 г массы ежедневно в течение 7 сут; 2-я — однократно за 30 мин до исследования. Контрольные животные получали инъекции той же дозы физиологического раствора. В некоторых случаях применяли ампульный спленин (также по 0,25 мл на 100 г массы). Контрольным животным в этом случае вводили растворитель спленина (физиологический раствор, содержащий 8 % алкоголя). Параллельно с пробами, содержащими порции тучных клеток, ставили контроль с известным количеством гистамина. Проводили определения содержания гистамина в тучных клетках в пересчете на $1 \cdot 10^6$ клеток, а также гистаминвысвобождающей активности тучных клеток в ответ на введение в инкубационную среду вещества 48/80 (доза 0,5 мкг/мл). Высвобождение гистамина выражали в процентах его общего содержания в порции инкубированных клеток и пересчитывали на абсолютное количество высвободившегося медиатора одним миллионом тучных клеток.

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных экспериментов показали, что парентеральное введение спленина в течение 7 сут существенно снижает содержание гистамина в тучных клетках (рисунок, а). Так, введение спленина, разведенного физиологическим раствором в соотношении 1:4, вызывает существенное снижение (на 22,8 %) абсолютной массы гистамина, содержащегося в одном миллионе тучных клеток по сравнению с его массой в таких клетках у контрольных животных, получавших

селезенке при иммунизации итроцитами барана [5, 8]. существование пока не сов-АС как иммуногена, в свя-жность при экстраполяции терностей, полученных в на противостафилокок-альный иммунитет в целом. ящей работе данных с ре- [2, 3], а также с данными е сходство феномена фор-нных к КАС трансплан-и у животных иммуноло-я характеризуются анало-единены общими клеточ-ты настоящего исследова-] предположение об адоп-КАС при трансплантации ингенным реципиентам.

chenko

E TRANSFER
OLOGICAL MEMORY
S

in recipients injected by primed 6 and (CBA×C57BL/6)F₁ mice. tive transfer experiments on all immune cells of CBA mice were e of the stimulatory ability of een priming and adoptive trans- of immune response to staphylo- e to the anamnestic reaction of s organism for the second time.

азующих клеток, специфических Иммунология.— 1983.— № 5.—

и формирование иммунологиче- енотипов // Журн. микробиоло- — С. 64—68.

кторы регуляции гуморального § 11.— С. 101—104.

ос иммунологической памяти к журн.— 1985.— 31, № 1.—

а специфической супрессии им- ол. эксперим. биологии и меди-

onse by lymphoid cell popula-

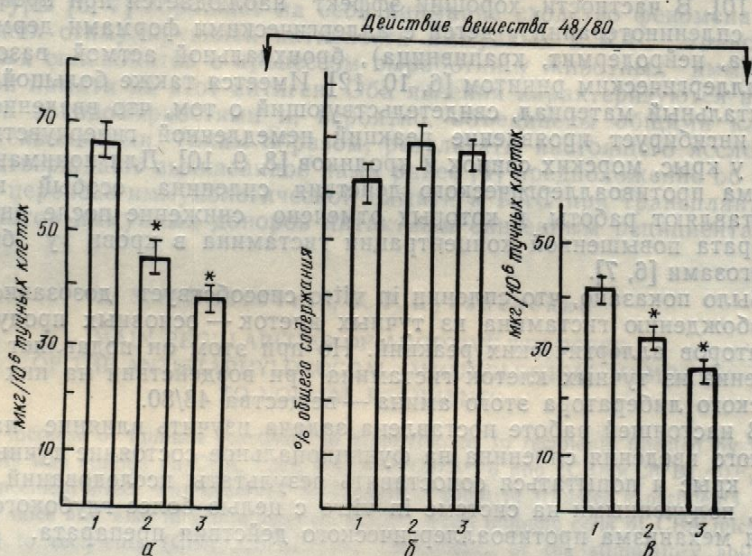
selection and network regula- K. Rajewsky.— Berlin: Sprin-

nd delayed hypersensitivity res- l.— 1978.— 121, N 2.— P. 539—

Поступила 18.07.85

инъекции физиологического раствора. Еще большее падение (на 34 %) абсолютных значений этого показателя наблюдалось при 7-суточном введении спленина-концентрата. Таким образом, с увеличением концентрации вводимого *in vivo* спленина происходит дозозависимое снижение общего количества гистамина в изолированных и инкубируемых тучных клетках, определяемое *in vitro*.

В отдельной серии опытов установлено, что аналогичной активностью обладает также и ампульный спленин, 7-суточное внутримышечное введение которого снижает (на 38,6 %) общее содержание гиста-



Влияние 7-суточного введения спленина на содержание гистамина в тучных клетках при инкубации их без (а) и в присутствии (в) вещества 48/80, а также высвобождение гистамина под воздействием этого либератора (б):

1 — физиологический раствор (контроль); 2 — спленин-концентрат сер. 94 (разведение 1:4); 3 — спленин-концентрат сер. 94. * Различия данных опыта по сравнению с данными контроля статистически достоверны.

мина в тучных клетках по сравнению с соответствующим контролем (опыт: $33,9 \pm 1,2$ мкг/1·10⁶ клеток; контроль: $55,2 \pm 1,8$ мкг/1·10⁶ клеток; $P < 0,001$).

О функциональном состоянии тучных клеток судили по их способности высвобождать медиатор в ответ на действие вещества 48/80. Результаты экспериментов представлены на рисунке 6, на котором видно, что при инкубации тучных клеток животных с веществом 48/80 процент высвободившегося гистамина по отношению к его общему содержанию в соответствующих порциях клеток опытных животных не отличается от такового у контрольной группы. Это свидетельствует о том, что введение различных доз спленина *in vivo* не приводит к потере или изменению способности тучных клеток реагировать на действие специфического либератора гистамина в системе *in vitro*.

Вместе с тем было установлено, что абсолютная масса высвободившегося гистамина в пересчете на один миллион тучных клеток у опытных животных существенно ниже, чем в контроле (см. рисунок, в), причем, она зависит от дозы вводимого спленина. Так, у животных, получавших спленин, разведенный 1:4, в ответ на действие вещества 48/80 высвободилось 32,1 мкг медиатора из одного миллиона тучных клеток, что составляет 76 % такового у контрольных животных. При введении спленина-концентрата из того же числа тучных клеток высвободилось еще меньше гистамина — 26,3 мкг, что составляет 62 % количества медиатора, высвободившегося в контроле.

Таким образом, у жив- течение 7 сут, в полной ме- отвечать на действие спец- масса высвободившегося г- это связано с меньшим его- животных в момент воздей-

В дополнительной сери- вое внутримышечное введе- вызывает каких-либо измен- мина в тучных клетках, ни- ответ на действие вещества

Анализируя полученные- следующее. Семисуточное- к достоверному снижению- Этот эффект препарата хор- способности спленина выс- ных клеток в системе *in v*- положить, что обнаруженное- тучных клетках животных,- выхода (высвобождения) м- введение спленина животн- гося в клетках, что и проя- ответ на действие специф- сама ответная реакция клет-

Представленные резуль- в экспериментальной и кли- следующей предположител- го влияния препарата на- ного типа.

У сенсibilизированны- спленина, происходит посто- стамина из тучных клеток- содержания медиатора в эт- ние гистамина, не сопровож- ми, приводит к «тренировк- вительных тканей и тем с- ности их к данному медиат- ному разрешающей дозы ал- брос гистамина из тучных- тканей на медиатор.

Такой механизм десенс- целого ряда фармакологич- высвобождающими нецитот- можно объяснить положит- спленина больным с целым

Высказанное предполож- ния проявлений реакции не- нием спленина не исключает- аллергического действия пр-

Фондом фонко S. V. Pokro-

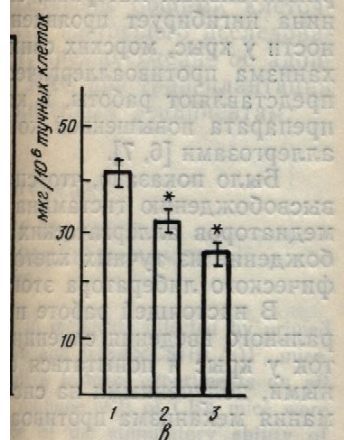
FUNCTIONAL STATE OF MAS

The experiment on rats has- seven days considerably decreases- mast cells of these animals. At t- action of a specific histamine lib- tage of the histamine release with- of cells in test animals does not- of the released mediator in terms c-

большее падение (на 34 %) наблюдалось при 7-суточном разном, с увеличением концентрации дозозависимое снижение и инкубируемых

то, что аналогичной активностью, 7-суточное внутримышечное общее содержание гиста-

вещества 48/80



ние гистамина в тучных клетках ва 48/80, а также высвобождение либератора (б):

трат сер. 94 (разведение 1:4); 3 — внению с данными контроля статисти-

ответствующим контролем $55,2 \pm 1,8$ мкг/1 · 10⁶ клеток;

тенок судили по их способности действие вещества 48/80. рисунке б, на котором видных с веществом 48/80 проению к его общему содержанию опытных животных не отличает. Это свидетельствует о том, что не приводит к потере реагировать на действие в теме *in vitro*.

солютная масса высвободив-ион тучных клеток у опытно-роле (см. рисунок, в), при-на. Так, у животных, полу-о действие вещества 48/80 о миллиона тучных клеток, х животных. При введении ных клеток высвободилось вляет 62 % количества ме-

Таким образом, у животных, получавших спленин ежедневно в течение 7 сут, в полной мере сохраняется способность тучных клеток отвечать на действие специфического либератора, однако абсолютная масса высвободившегося гистамина существенно снижена. Вероятно, это связано с меньшим его содержанием в тучных клетках опытных животных в момент воздействия на них высвободителя.

В дополнительной серии экспериментов установлено, что однократное внутримышечное введение спленина за 0,5 ч до исследования не вызывает каких-либо изменений ни абсолютных значений массы гистамина в тучных клетках, ни их способности высвобождать медиатор в ответ на действие вещества 48/80.

Анализируя полученные результаты работы, необходимо отметить следующее. Семисуточное парентеральное введение спленина приводит к достоверному снижению массы гистамина в тучных клетках крыс. Этот эффект препарата хорошо согласуется с данными о дозозависимой способности спленина высвобождать гистамин из изолированных тучных клеток в системе *in vitro* [5]. На основании этого можно предположить, что обнаруженное нами уменьшение содержания гистамина в тучных клетках животных, получавших инъекции спленина — следствие выхода (высвобождения) медиатора из клеток. Вероятно, длительное введение спленина животным уменьшает запасы гистамина, находящегося в клетках, что и проявляется в снижении выброса медиатора в ответ на действие специфического либератора — вещества 48/80, хотя сама ответная реакция клеток при этом не нарушена.

Представленные результаты, а также опыт применения спленина в экспериментальной и клинической иммунологии дают основания для следующей предположительной трактовки механизма ингибирующего влияния препарата на развитие гиперчувствительности немедленного типа.

У сенсibilизированных животных, получающих курс инъекций спленина, происходит постоянное высвобождение небольшой массы гистамина из тучных клеток и тем самым происходит снижение общего содержания медиатора в этих клетках. Такое постоянное высвобождение гистамина, не сопровождающееся видимыми общими проявлениями, приводит к «тренировке» гистаминовых рецепторов гистаминчувствительных тканей и тем самым способствует снижению чувствительности их к данному медиатору. Вследствие этого при введении животному разрешающей дозы аллергена происходит не только меньший выброс гистамина из тучных клеток, но и сниженный ответ окружающих тканей на медиатор.

Такой механизм десенсибилизирующего действия предложен для целого ряда фармакологических препаратов, обладающих гистамин-высвобождающими нецитотоксическими свойствами [2, 3]. Аналогично можно объяснить положительный клинический эффект при введении спленина больным с целым рядом аллергических заболеваний.

Высказанное предположение о наличии такого механизма снижения проявлений реакции немедленной гиперчувствительности под влиянием спленина не исключает существования других путей противоаллергического действия препарата.

S. V. Pokrovskaya, A. V. Shevchenko

FUNCTIONAL STATE OF MAST CELLS IN RATS AFTER SPLEEN INJECTIONS

The experiment on rats has established that parenteral introduction of splenin for seven days considerably decreases the total histamine content in isolated and incubated mast cells of these animals. At the same time response of mast cells *in vitro* to the action of a specific histamine liberator, substance 48/80, remains undisturbed: percentage of the histamine release with respect to its total content in corresponding portions of cells in test animals does not differ from that in control ones. But absolute weight of the released mediator in terms of a million of mast cells is reliably lower in the sple-

nin-injected animals. It is concluded that inhibitory action of splenin on the development of hypersensitive immediate species is associated with its histamine-releasing noncytotoxic properties.

Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev

1. Гуцин И. С. Действие простагландина E_1 и папаверина на анафилактическое высвобождение гистамина из тучных клеток // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1977. — № 1. — С. 32—35.
2. Гуцин И. С. Антигистаминные препараты как высвободители гистамина и ингибиторы его высвобождения // Патогенез аллергических процессов в эксперименте и клинике. — М.: Медицина, 1979. — С. 118—131.
3. Гуцин И. С. Использование элементов механизма специфической гипосенсибилизации для поиска новых принципов лечения аллергии // Вопросы этиологии, патогенеза, диагностики и лечения аллергических заболеваний: Сб. науч. тр. — Ташкент, 1980. — С. 29—35.
4. Гуцин И. С., Покровская С. В., Зебрев А. И. Действие спленина на клетки-мишени аллергической реакции. — Иммунология. — 1983. — № 1. — С. 73—75.
5. Захарова А. Ф., Митрохина Н. М., Плотникова Н. Е. Лечение спленином вазомоторного ринита у детей // Сов. медицина. — 1976. — № 7. — С. 108—111.
6. Митрохина Н. М., Захарова А. Ф. Применение спленина при лечении аллергических заболеваний верхних дыхательных путей // Материалы к межобласт. науч.-практ. конф. оториноларингологов и выезд. науч. сессии Моск. НИИ уха, горла и носа. — М.: 1977. — С. 93—95.
7. Митрохина Н. М. Иммунотерапия больных аллергическим ринитом // Актуальные вопросы оториноларингологии. — М., 1981. — С. 47—50.
8. Покровская С. В., Шевченко А. В., Шуцкий И. В. и др. Влияние спленина на иммунологическую реактивность организма // Регуляция иммунного гомеостаза. — Л., 1982. — С. 82.
9. Покровская С. В., Шевченко А. В. Особенности течения анафилактической реакции у животных на фоне введения спленина. Деп. Библиограф. указатель ВИНТИ, 1984, 7, 6/о 308.
10. Чернушенко Е. Ф., Чумак А. А., Исаева Э. Г. и др. Влияние иммуномодулирующих препаратов на гиперчувствительность замедленного и немедленного типа // Актуальные проблемы современной патофизиологии. — Киев: Наук. думка, 1981. — С. 394—396.
11. Чернушенко Е. Ф., Козосова Л. С., Гончарова С. И. и др. Иммунорегулирующее действие спленина // Регуляция иммунного гомеостаза. — Л., 1982. — С. 109—110.
12. Шуцкий И. В., Покровская С. В. Применение спленина в комплексном лечении заболеваний кожи у детей // Информ. листок МЗ УССР. — 1983.

Киев, ин-т эндокринологии
и обмена веществ МЗ УССР

Поступила 19.04.85

УДК 612.261

В. А. Березовский, Б. С. Сушко

ВЛИЯНИЕ ДИЕТ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ НАСЫЩЕННЫХ И НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ДИФфуЗИЮ КИСЛОРОДА В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Известно, что химический состав клеточных мембран может значительно изменяться под влиянием алиментарных факторов или парентерального введения липосом заданного состава [1, 5, 6]. В первую очередь при этом меняется липидный состав мембран, что влияет на их кинетическую вязкость, условия диффузии кислорода. Тем не менее в доступных нам работах отсутствуют сведения о возможной модификации сопротивления тканей потоку кислорода и пределах вариации значений коэффициента диффузии в тканях в различных условиях. Цель настоящей работы — исследовать влияние пищевых рационов на диффузию кислорода в скелетных мышцах белых крыс.

Методика

Работа проведена на 75 белых крысах-самках массой 250—300 г, которые дополнительно получали жиры из расчета 0,2 г на 100 г массы тела в течение 2—3 нед. Исследованы три группы животных (рисунок): К — контрольные животные, содержащиеся

на стандартной диете; С — животные, получавшие добавки насыщенных жирных кислот. Проведены измерения за 2 периода года.

Измерение коэффициентов диффузии кислорода в мышечной ткани проводили по методу Фика [2, 3, 4, 7] на основе измерения тока кислорода с теоретическими коэффициентами диффузии O_2 в при-

Среднегрупповые значения коэффициента диффузии кислорода в мышечной ткани в контрольной (1) и опытной (2) сериях животных. К — группа контрольных животных; С — группа животных, получавших добавки гидрированных жиров. Содержание ненасыщенных жирных кислот в пище: К — 0,2%; С — 10%.

индикаторного электрода, используя импульсную систему. Интервал между импульсами — 6,0 с; интервал между точками броскового тока — 1 с. Потенциал поляризации — 0,1 В. Диаметр электрода — 75 мкм в стекле, диаметр — 0,5 мм. В качестве рабочего электрода использовалась платиновая проволока. Измерения проводили на препарате из икроножной мышцы наркотизированной крысы. Раствор — 0,2 %-й раствор, 2,5 мл суммарно.

Результаты

Проведенные измерения коэффициента вариации значений диффузии кислорода в мышечной ткани показали, что среднее значение коэффициента диффузии в контрольной группе составило $(3,9 \pm 0,5) \times 10^{-6} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$. Добавка насыщенных жирных кислот к стандартной диете привела к значительному увеличению коэффициента диффузии. Среднее значение коэффициента диффузии в опытной группе составило $(15,7 \pm 0,5) \times 10^{-6} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$. Это значение практически в 4 раза превышает значение в контрольной группе. Эти изменения относительны, так как индивидуальные значения не являются абсолютными.

Для решения вопроса о влиянии экзогенного введения липидов на диффузию кислорода в мышечной ткани проводили измерения в контрольной и опытной группах животных. В контрольной группе среднее значение коэффициента диффузии составило $(3,9 \pm 0,5) \times 10^{-6} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$. Это значение практически в 4 раза превышает значение в опытной группе. Для животных с большим содержанием ненасыщенных жирных кислот в пище коэффициент диффузии был значительно выше, чем у животных с меньшим содержанием.