

- rolases bound to the intestinal brush border membrane. 1. Solubilization by papain and Triton X-100 // *Biochim. et biophys. acta.*—1975.—375, N 2.—P. 236—248.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr L. A., Randall R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.*—1951.—193, N 1.—P. 265—275.
17. Murer H., Amman E., Biber J., Hopfer U. The surface membrane of adenyl cyclase // *Biochim et biophys. acta.*—1976.—433, N 3.—P. 509—519.
18. Quigley J. P., Gotterer G. S. A comparison of the $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)\text{-ATPase}$ activities found in isolated border and plasma membrane of the rat intestinal mucosa // *Ibid.*—1972.—255, N 1.—P. 107—113.
19. Schriener J., Nell G., Loeschke K. Effect of diphenolic laxatives on Na^+ , K^+ -activated ATPase and cyclic nucleotide content of rat colon mucosa in vivo // *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*—1980.—313, N 3.—P. 249—255.
20. Turnberg L. A. Disturbances of intestinal ion transport in diarrhea // *Clin. Res. Reviews.*—1981.—1, N 1.—P. 1—9.

Укр. с.-х. акад. Госагропрома СССР,
Киев

Материал поступил в редакцию 19.08.88

УДК 616.25—002:611—018.—21+616—003.725

Р. У. Липшиц, Н. А. Клименко

Тучные клетки легкого при экспериментальном гиперергическом плеврите

В предыдущих исследованиях мы изучали функциональное состояние тучных клеток (ТК) плевральной полости и высвобождение ими гистамина и серотонина в раннюю фазу гиперергического плеврита у белых крыс [5]. При изучении медиаторов воспаления наряду с экссудатом необходимо исследовать саму воспаленную ткань [1]. Характеристика гиперергического плеврита, роли в нем ТК и их биологически активных веществ были бы неполными без изучения реакции на воспалительный агент легочной ткани. Кроме того, не освещено морфофункциональное состояние ТК, содержание в воспаленной ткани гистамина и серотонина в возможно ранние сроки развития аллергического воспаления. Не изучена динамика высвободившихся, биологически активных, и клеточных аминов, что явилось целью настоящей работы.

Методика

Опыты проведены на 78 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180—200 г. Гиперергический плеврит анафилактического типа [15] воспроизводили введением в правую плевральную полость 0,1 мл лошадиной сыворотки через 14 сут после субплантарной сенсibilизации крыс 0,3 мл смеси, состоящей из равных объемов лошадиной сыворотки и коклюшной вакцины [4]. Животных умерщвляли декапитацией, спустя 5, 15, 30 мин, 1, 3 и 5 ч. Верхнюю долю легкого фиксировали в 96-градусном спирте, проводили через целлоидин-парафин и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали кислым толуидиновым синим (для выявления ТК) и гематоксилином-эозином. Свободные гистамин и серотонин извлекали инкубацией нижней доли легкого в растворе Тирода в течение 24 ч при температуре 4°C [9], клеточные — кипячением той же, но измельченной, навески в новой порции раствора Тирода в течение 10 мин [7]; концентрации аминов выражали в наномолях на 1 г ткани. Определение гистамина и серотонина производили модифицированными флюорометрическими методами Shore и Snyder [2, 6] на спектрофлюорометре «Hitachi». Контролем служили крысы, которым внутривнеплеврально вводили лошадиную сыворотку без предварительной сенсibilизации, а также сенсibilизированные животные без разрешающей инъекции антигена. Значения показателей, полученных в контроле, сравнивали с таковыми интактных крыс. Статистическую обработку проводили с использованием непараметрического критерия X ван дер Вардена.

Результаты и их обсуждение

Сенсибилизация характеризовалась возрастанием числа и функциональной активности ТК, содержания свободных и клеточных гистамина и серотонина в легком по сравнению с таковыми у интактных крыс [4].

Внутриплевральное введение лошадиной сыворотки несенсибилизированным крысам не сопровождалось значимыми изменениями содер-

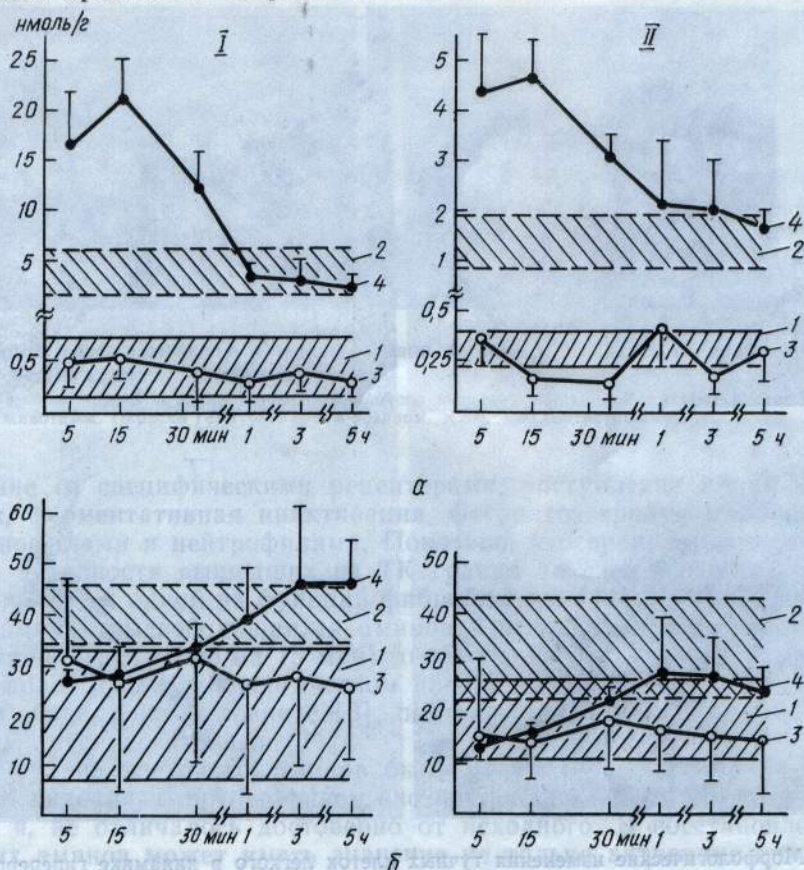


Рис. 1. Содержание свободного (а) и клеточного (б) гистамина (I) и серотонина (II) в ткани легкого в динамике гиперергического плеврита у белых крыс:

1 — интактные крысы; 2 — контроль, сенсибилизация без разрешающей инъекции антигена; 3 — контроль, внутриплевральное введение лошадиной сыворотки без предварительной сенсибилизации; 4 — опыт, внутриплевральное введение антигена сенсибилизированным крысам. По оси ординат — концентрация амина, по оси абсцисс — время после внутриплевального введения лошадиной сыворотки.

жения свободных и клеточных гистамина и серотонина по сравнению с исходным (рис. 1), а также морфологической картины легкого за исключением некоторой активации ТК, выражавшейся потерей гранул и опустошением части клеток через 30 мин — 1 ч (рис. 2, а).

При морфологическом исследовании легкого через 5 мин после внутриплевального введения антигена сенсибилизированным крысам отмечены отек плевры и субплеврального пространства с диффузным базофильным окрашиванием, увеличение размера ТК и появление вокруг них гранул (рис. 2, б), что свидетельствует об активации и дегрануляции ТК. Через 15 мин дегрануляция нарастала, отмечалось опустошение клеток, усиление диссеминации гранул в окружающей ткани (рис. 2, в). В субплевральных участках появлялись небольшие инфильтраты, в основном гистиолимфоцитарные, в которых изредка встречались полиморфноядерные лейкоциты. Через 30 мин (рис. 2, г) наряду с дегрануляцией обнаружены признаки восстановления ТК — более интенсивное окрашивание толуидиновым синим, увеличение числа гранул в клетках, размеров ядер, очень бледно окрашенных, равномерное рас-

пределение гетерохроматина в виде мельчайших зерен, что свидетельствует об активации синтетических процессов, происходящих в клетках. Чаще встречались очаги субплевральной инфильтрации легочной ткани с увеличенным числом полиморфноядерных лейкоцитов. Через 1, 3 и 5 ч ТК округлые, увеличенного размера, с большим активным ядром и прогрессирующим восстановлением числа гранул при одновременном

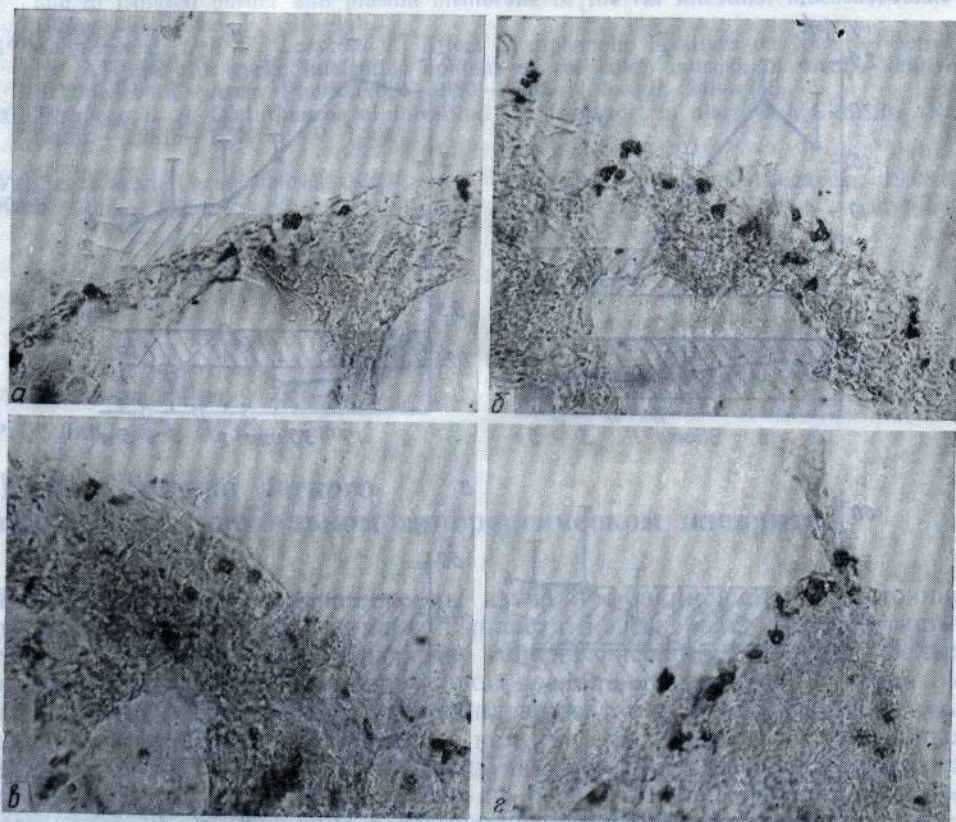


Рис. 2. Морфологические изменения тучных клеток легкого в динамике гиперергического плеврита у белых крыс:

а — клетки несенсибилизированного животного (контроль) через 30 мин после внутриплеврального введения лошадиной сыворотки; б, в, г — клетки сенсибилизированных животных через 5, 15, 30 мин после внутриплеврального введения лошадиной сыворотки соответственно. Окраска толуидиновым синим. $\times 400$.

наличия гранул за пределами клеток. В увеличивающихся и сливающихся очагах субплевральной инфильтрации легкого (рис. 3) нарастало число полиморфноядерных лейкоцитов, через 3 и 5 ч постепенно увеличивалось число мононуклеаров. Интересно отметить, что у контрольных животных (см. рис. 2, а), которым внутриплеврально вводили лошадиную сыворотку без предварительной сенсибилизации, не только меньше размер ТК, но и меньше их число, что подтверждает установленное нами ранее увеличение числа ТК при сенсибилизации, имеющее, по-видимому, значение в осуществлении гиперергической реакции (избыток биологически активных веществ) при контакте сенсибилизированного организма со специфическим аллергеном [4].

Дегрануляция ТК легкого сопровождалась высвобождением гистамина и серотонина, увеличением их свободных фракций и снижением клеточных (см. рис. 1). Максимальное содержание свободных аминов отмечено через 15 мин после воспроизведения воспаления, что согласуется с результатами морфологических исследований. При этом содержание свободного гистамина возрастало в 5,5 раза, серотонина — в 3,3 раза.

Высвободившиеся амины быстро исчезали из воспаленной ткани. К 30-й минуте содержание свободных аминов было снижено по сравнению с максимальным, отмеченным на 15-й минуте, однако еще заметно превышало исходное (гистамин — в 3,2, серотонин — в 2,2 раза). В последующие сроки (1, 3 и 5 ч) оно не отличалось от исходного. Возможными способами реализации свободных аминов являются их

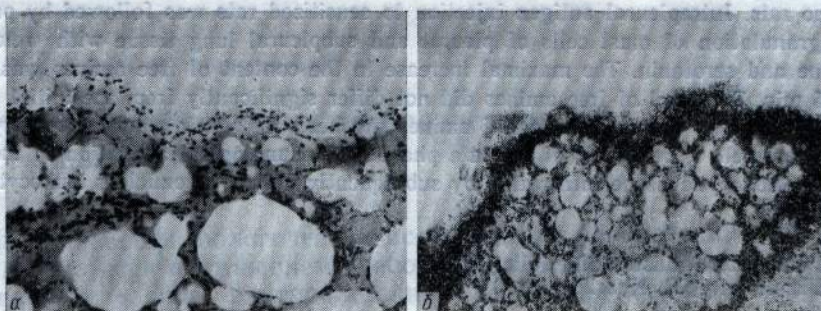


Рис. 3. Общие морфологические изменения ткани легкого в динамике гиперергического плеврита у белых крыс:

а — через 1 ч, б — через 5 ч после внутриплеврального введения лошадиной сыворотки сенсibilизированным животным. Окраска гематоксилином-эозином. $\times 200$, $\times 80$ соответственно.

связывание со специфическими рецепторами, поступление в лимфо- и кровотоки, ферментативная инактивация, фагоцитоз гранул макрофагами, эозинофилами и нейтрофилами. Показано, что прекращение биологической активности вышедших из ТК гранул за счет фагоцитоза последних является одной из функций фибробластов [14].

Динамика высвободившихся аминов в основном соответствует (с запаздыванием примерно на 15 мин) динамике свободных аминов плевральной полости при гиперергическом плеврите [5], а также при асептическом скипидарном плеврите [3], подтвержденной в настоящее время другими исследователями [11].

Содержание клеточных аминов было наиболее низким на 5—15-й минуте воспаления. В последующем оно постепенно нарастало и, спустя 1, 3 и 5 ч, не отличалось достоверно от исходного. В восстановлении клеточных аминов может иметь значение не только активация синтеза аминов, но и обратный транспорт («uptake») высвободившихся аминов в ТК [17], фагоцитоз гранул, аминоксепсия ткани. Возможно, что точнее такую форму амина было бы назвать «остаточным» амином [7].

Таким образом, вслед за воспроизведением гиперергического плеврита развивается прогрессирующая дегрануляция ТК плевры и периплевральных участков легочной ткани с высвобождением гистамина и серотонина, сопровождающаяся ранней активацией синтеза аминов и восстановлением их запаса. При этом явления, характерные для ранней фазы иммунологической активации ТК (классической немедленной аллергической реакции), — дегрануляция ТК, отек ткани — сменяются так называемыми реакциями поздней фазы — лейкоцитарной инфильтрацией ткани последовательно полиморфноядерными лейкоцитами и макрофагами [10]. В настоящее время реакциям поздней фазы придается существенное значение в гиперреактивности дыхательных путей, как и воспалительным изменениям дыхательных путей в целом — в патогенезе аллергических болезней, особенно бронхиальной астмы [8, 13].

Все увеличивающееся число обнаруживаемых в ТК медиаторов воспаления [12, 16] и данных об их взаимодействии с другими медиаторами и клетками, вовлекаемыми в воспалительный процесс [8, 13], в свете представлений о ранней и поздней фазах иммунологической активации ТК и о взаимосвязи воспаления и аллергии в более широком смысле углубляют понимание роли ТК и их биологически активных веществ в патогенезе аллергических воспалительных заболеваний и практической значимости дальнейших исследований в этом направлении.

CHANGES IN MAST CELLS REACTION OF THE LUNG WITH EXPERIMENTAL HYPERERGIC PLEURISY

Reaction of mast cells, the content of free and cell histamine and serotonin in the lung tissue at early stage of inflammation were studied on the model of hyperergic pleurisy in albino rats. Intrapleural antigen injection to sensitized rats was followed by progressive degranulation of mast cells of pleural and subpleural lung tissue with release of histamine and serotonin. The maximal increase in the content of free amines was found after 15 min. The level of free amines did not differ significantly from the initial one by the first hour. The early activation of amines synthesis and their storage recovery were observed as well as reactions of the late phase of immunological activation in the mast cells as a leukocytic tissue infiltration by subsequently polymorphonuclear leukocytes and macrophages.

Medical Institute, Ministry of Public Health
of the Ukrainian SSR, Kharkov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альперн Д. Е., Липищ Р. У. Медиаторы воспаления // Арх. патологии.— 1966.— № 4.— С. 3—13.
2. Кулинский В. И., Костюковская Л. С. Определение серотонина в цельной крови человека и лабораторных животных // Лаб. дело.— 1969.— № 7.— С. 390—394.
3. Липищ Р. У., Клименко Н. А. Медиаторы воспаления и проницаемость сосудов в ранней фазе острого экспериментального плеврита // Физиол. журн.— 1981.— 27, № 2.— С. 224—227.
4. Липищ Р. У., Клименко Н. А. Тучные клетки, гистамин и серотонин в сенсибилизированном организме // Там же.— 1982.— 28, № 5.— С. 616—619.
5. Липищ Р. У., Клименко Н. А. Тучные клетки, высвобождение гистамина и серотонина в ранней фазе гиперергического плеврита у белых крыс // Там же.— 1985.— 31, № 3.— С. 360—363.
6. Мецеракова С. А. Флюорометрический метод определения гистамина в крови и тканях // Лаб. дело.— 1971.— № 2.— С. 103—105.
7. Assem E. S. K., Schild H. O. Detection of allergy to penicillin and other antigens by the in vitro passive sensitization and histamine release from human and monkey lung // Brit. Med. J.— 1968.— 3, N 5613.— P. 272—276.
8. Barnes N. C., Costello J. F. Airway hiperresponsiveness and inflammation // Brit. Med. Bull.— 1987.— 43, N 2.— P. 445—459.
9. Grof P. A. A bőr szabadhistamin-tartalmának meghatározása, I. amódszer // Börg. venerol. szemle.— 1962.— 38, N 3.— P. 97—102.
10. Kaliner M., Lemanske R. Inflammatory responses to mast cell granules // Fed. Proc.— 1984.— 43, N 13.— P. 2846—2851.
11. Kukuchi M., Oh-Ishi S. Involvement of histamine in vascular permeability increase of the rat pleurisy induced by phorbol myristate acetate // Jap. J. Pharmacol.— 1985.— 39, N 4.— P. 467—473.
12. König W., Bohn A., Bremm K. D. et al. Die Rolle der Mastzelle bei allergischen und entzündlichen Erkrankungen // Prax. Klin. Pneumol.— 1983.— 37, N 4.— S. 127—138.
13. Lazarus S. C. Role of inflammation and inflammatory mediators in airways disease // Amer. J. Med.— 1986.— 81, N 5A.— P. 2—7.
14. Liauw L., Lewis A. J. Mast cells in inflammation and allergy // Agents Actions.— 1985.— 17, N 1.— P. 77—79.
15. Sell S. Immunopathology // Amer. J. Pathol.— 1978.— 90, N 1.— P. 211—279.
16. Wasserman S. I. The mast cell: Its diversity of chemical mediators // Int. J. Dermatol.— 1980.— 19, N 1.— P. 7—17.
17. West G. B. Plenary lecture: Mast cells revisited // Agents Actions.— 1986.— 18, N 1/2.— P. 5—19.

Харьков. мед. ин-т
М-ва здравоохранения СССР

Материал поступил в редакцию 10.07.88