

Тучні клітини у вогнищі карагіненового гострого асептичного запалення

На моделі острого асептичного перитоніта, викликаного карагіненом у крыс, изучены закономірності морфофункціонального стану тучних клітин (ТК), вмісту вільного і клітинного гістаміну в ексудаті і брыжейке, концентрації гістаміну в крові, починаючи з 5-ї хвилини до 10-х діб після введення флогогену. Показано, що при карагіненовому асептичному запаленні, як і при інфекційному, має місце фазна реакція ТК, яка спостерігається по меншій мірі на протязі 10 діб після дії флогогену. При цьому перша фаза - швидка, короткочасна - також відзначалася в процесі розвитку запалення, друга - поступова, тривала - з 1-го години до 10-х діб. По меншій мірі на протязі 1 діб закономірності реакції ТК були дуже схожими з такими при інфекційному перитоніті. Як і при інфекційному запаленні, реакція ТК в другій її фазі корелювала з накопиченням лейкоцитів в очагах. В той же час показана залежність динаміки морфофункціональних змін ТК при асептичному запаленні від властивостей флогогену (раздражуючі і порівняно індиферентні флогогени).

Вступ

В попередніх дослідженнях [5] на моделі перитоніту у щурів, викликаного *E. coli*, показано, що реакція тучних клітин (ТК) у вогнищі гострого інфекційного запалення є двофазовою. При цьому в ексудаті перша фаза відзначалася протягом півгодини після відтворення запалення і виявлялася швидкою дегрануляцією ТК, зменшенням їх числа (на 1/3), вивільненням великої кількості гістаміну (вміст якого сягав вершини на 15-30-ту хвилину і потім знижувався), друга - спостерігалася у період від 1-ї години до 10-ї доби і характеризувалася поступовим наростанням інтенсивності дегрануляції ТК, зменшенням їх кількості та вивільненням гістаміну, так що на 10-ту добу число ТК ще становило 1/10 від вихідного. Була відзначена кореляція між другою фазою реакції ТК і накопиченням в ексудаті лейкоцитів. Далі встановлено залежність дегрануляції ТК вогнища запалення від лейкоцитів [4].

Разом з тим у наших дослідженнях [6], виконаних на моделі скипидарного перитоніту у щурів, доведено, що при гострому асептичному перитоніті ТК уже на 5-ту хвилину після введення флогогену були в ексудаті відсутні внаслідок їх зруйнування, а вміст вільного гістаміну сягав вершини на 5-ту й уже на 15-ту хвилину і в подальші строки вірогідно не відрізнявся від вихідного. Таким чином,

при асептичному скипидарному запаленні реакція ТК завершувалася ще до помітного накопичення лейкоцитів у вогнищі.

Виходячи з типовості запалення, логічно було припустити, що вказана відміна в реакції ТК зумовлена не різницею у патогенезі інфекційного і асептичного запалення загалом, а особливістю скипидару як асептичного флогогену, тобто є винятком, а не правилом. Як відомо, скипидар відноситься до так званих подразнюючих хімічних флогогенів (таких, як кротонова та гірчична олії, ксилол, ляпіс, формалін тощо), яким властивий виражений прямий пошкоджуючий ефект на тканину [8, 13], у тому числі, певно, і на ТК. У такому випадку дегрануляція ТК може бути переважно компонентом первинної альтерації, ніж запалення. При використанні порівняно індиферентних запальних агентів (наприклад, іноридні тіла, каолін, крохмаль тощо) дегрануляція ТК має більше відображати їх реакцію у зв'язку з запаленням і, відповідно, - бути подібнішою до такої при інфекційному запаленні. До останніх флогогенів відноситься і карагінен, який являє собою сульфатований мукополісахарид, виділений з ірландського морського моху *Chondrus*, і у більшості випадків застосовується у якості запального агента [8]. Слід зазначити, що більшість даних літератури про закономірності морфофункціональних змін ТК у вогнищі гострого асептичного запалення отримана саме з використанням роздратовуючих флогогенів, зокрема скипидару. Метою нашого дослідження стало вивчення реакції ТК при карагіненовому запаленні й порівняння з такою при інфекційному [5].

Методика

Досліди проведені на 144 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Карагінен (фірми «Sigma», США) вводили внутрішньочеревинно у дозі 5 мг у 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [1]. У попередніх дослідженнях за даними накопичення лейкоцитів у вогнищі запалення, яке вважається інтегративним показником інтенсивності запалення, встановлено, що у вказаній дозі карагінен викликає запалення, близьке за інтенсивністю використаному в попередній праці [5] інфекційному запаленню (викликаному 1/2 ЛД₅₀ *E. coli*, виділеної від хворого на перитоніт). У різні строки після відтворення запалення тварин декапітували. У лічильній камері при забарвленні нейтральним червоним підраховували кількість ТК у перитонеальному змиві та дегранульованих [3], у забарвлених толуїдиновим синім [12] плівкових препаратах брижі (у 100 полях зору мікроскопу при збільшенні у 400 разів) і відносну кількість дегранульованих ТК. Для отримання перитонеального змиву внутрішньочеревинно вводили 5 мл охолодженого розчину Тіроде, що містив 5 Од/мл гепарину. Модифікованим флуорометричним методом [2] визначали вміст у перитонеальному змиві і брижі вільного та клітинного гістаміну, як описано раніше [7], а також концентрацію гістаміну в крові. Підраховували загальне число лейкоцитів і клітинний склад ексудату.

Результати та їх обговорення

На 5-15-ту хвилину після введення карагіненоу число дегранульованих ТК помітно збільшувалося, становлячи 34 % на 15-ту хвилину (при вихідному - 3,54 %), і було представлено головним чином ТК I і II ступенів дегрануляції (рис. 1). У наступні строки дослідження воно збільшувалося поступово в основному за рахунок ТК II ступеня дегрануляції і сягало максимуму на 2-гу годину (96 %). Кількість ТК вірогідно знижувалася на 5-ту годину і була найменшою через 12 год (в 2 рази нижчою від вихідної). Однак на відміну від інфекційного запалення, при якому вміст ТК продовжував знижуватися аж до 10-ї доби, у даному випадку кількість ТК, починаючи з 1-ї доби, дещо відновлювалася, на цей же час відзначалося помітне зменшення числа дегранульованих клітин порівняно з попередніми строками дослідження. На 10-ту добу кількість ТК поверталася до вихідної; при цьому, однак, відсоток дегранульованих клітин ще залишався підвищеним. Вміст вільного гістаміну в перитонеальному змиві багаторазово підвищувався на 5-ту хвилину й вірогідно не відрізнявся від вихідного вже на 15-ту хвилину. Через 5 год відзначене його повторне істотне збільшення. Вміст клітинного гістаміну був зниженим через 5 і 15 хв після дії флогогену і статистично не відрізнявся у решту строків у зв'язку з активацією синтезу гістаміну ТК.

Як і при інфекційному перитоніті, у брижі число дегранульованих ТК збільшувалося ще швидше, ніж в перитонеальній рідині, так що вже на 15-ту хвилину становило 57 % і було представлено переважно ТК II ступеня дегрануляції, а максимуму (89 %) сягало на 5-ту годину (див. рис. 1). Воно починало зменшуватися через 5 діб, а на 10-ту добу, хоч і знижувалося значно (до 26 %), все ж залишалося набагато більшим від вихідного (1,64 %). Кількість ТК вірогідно зменшувалася вже на 30-ту хвилину і залишалася зниженою в подальші строки дослідження, сягаючи мінімуму через 5 год і 1 добу (в 1,8 і 2 рази відповідно меншого за вихідну). Вміст вільного гістаміну в брижі також багаторазово був збільшеним через 5 хв і не відрізнявся вірогідно вже на 15-ту хвилину. Починаючи з 1-ї години відзначалося його повторне поступове збільшення з максимумом на 5-ту годину, слідом за чим він змінювався хвилеподібно, статистично підвищуючись на 3-тю та 10-ту доби. Вміст клітинного гістаміну у брижі помітно зменшувався через 5 хв, після чого він вірогідно не відрізнявся від вихідного через 15 хв - 5 год, що свідчить про активацію його синтезу, знову був зниженим через 12 год - 2 доби й відновлювався, так що статистично не відрізнявся від контролю у решту строків. У крові концентрація гістаміну була підвищеною у всі строки. При цьому вона змінювалася хвилеподібно, сягаючи максимуму на 15-ту хвилину, 5-ту годину (максимальний рівень) і 10-ту добу (рис. 2,а).

Таким чином, при карагіненовому асептичному запаленні, як і при інфекційному, мала місце фазна реакція ТК, яка також спостерігалася принаймні, протягом 10 діб після дії флогогену. При цьому перша фаза - швидка, короткочасна - також відзначалася протягом півгодини

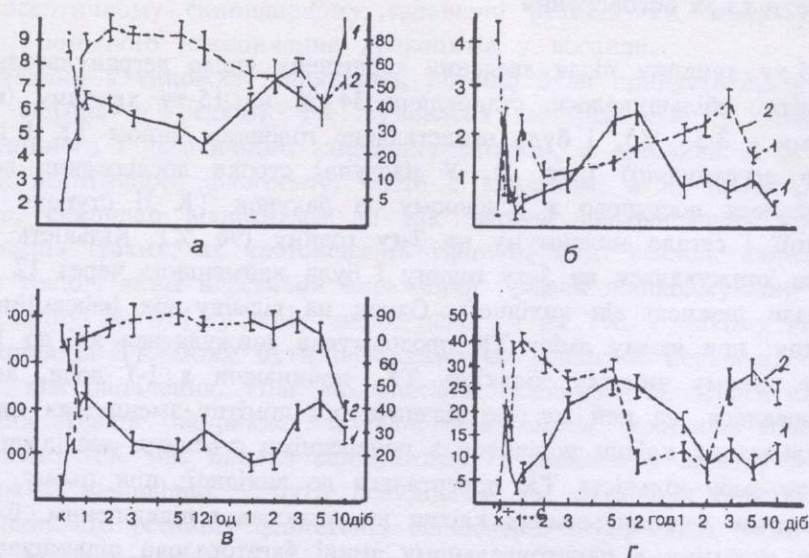


Рис. 1. Кількість тучних клітин ($\times 10^5$, ліва шкала) і дегранульованих (% , права шкала) - а; вміст у перитонеальному змиві вільного (1) і клітинного (2) гістаміну (мкмоль/л) - б - число тучних клітин (у 100 полях зору мікроскопу при $\times 400$, ліва шкала) та дегранульованих (% , права шкала) - в; вміст вільного (1) та клітинного (2) гістаміну (нмоль/г) - г - у брижі шурів в динаміці карагіненового гострого асептичного перитоніту.

після відтворення запалення, друга - поступова, тривала - від 1-ї години до 10-ї доби. Принаймні протягом 1-ї доби закономірності реакції ТК були досить подібні до таких при інфекційному перитоніті, що свідчить про спільність закономірностей участі ТК у розвитку різних за етіологією видів гострого запалення (асептичного і інфекційного) і узгоджується з типовістю запалення.

Як і при інфекційному запаленні, реакція ТК у другій її фазі корелювала з акумуляцією лейкоцитів у вогнищі. Так, дегрануляція ТК збільшувалася, а кількість перитонеальних ТК зменшувалася в міру накопичення в ексудаті лейкоцитів, і найменше число ТК збігалось з максимумом лейкоцитів у вогнищі, який спостерігався на 12-ту годину (рис. 2,б). У наступні строки (1-5 доба), коли вміст лейкоцитів підтримувався приблизно на одному рівні, кількість ТК також практично не змінювалася. На 10-ту добу, коли число лейкоцитів в ексудаті було близьким до вихідного, кількість ТК уже не відрізнялася від контролю, їх дегрануляція значно зменшувалася.

Отримані результати показують, що у зв'язку з наявністю різних видів асептичних флогогенів - подразнюючих і порівняно індиферентних - динаміка морфофункціональних змін ТК при гострому асептичному запаленні залежить від властивостей флогогену, який, у свою чергу, визначає переважний тип дегрануляції ТК - цитотоксичний (цитолітичний) чи нецитотоксичний. У той час як, наприклад, для скипидарного запалення більш характерний перший тип, для карагіненового - другий. Це витікає не лише з динаміки кількості ТК, а й з морфологічних спостережень за характером дегрануляції ТК в

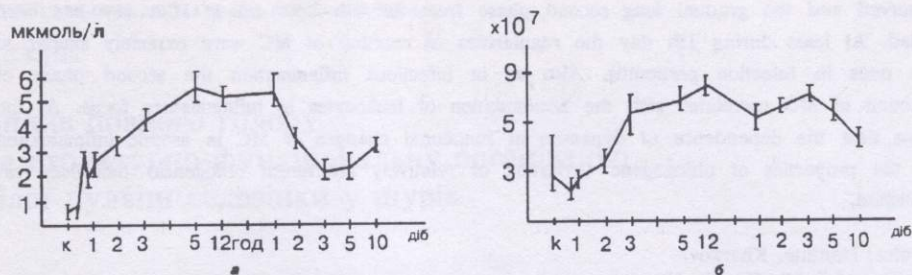


Рис. 2. Вміст гістаміну (а) у крові і загальна кількість лейкоцитів (б) у черевній порожнині щурів у динаміці карагіненового гострого асептичного перитоніту.

обох випадках і біохімічних результатів про збереження і стимуляцію синтезу гістаміну активованими ТК при карагіненовому запаленні на відміну від скипидарного.

У зв'язку з наведеними результатами, які однозначно свідчать про залучення ТК до патогенезу карагіненового запалення, привертають увагу дані [11] про те, що, на відміну від інших за етіологією видів гострого запалення, ТК не мають значення при запаленні, викликаному карагіненом. На моделі карагіненового плевриту у щурів не виявлено морфологічних змін ТК і підвищення рівня позаклітинного гістаміну в ексудаті при дослідженні протягом 4 год після відтворення запалення, а виснаження популяції ТК речовиною 48/80 або використання антигістамінів не впливали на розвиток запалення. Автори прийшли до висновку, що вивільнення гістаміну відбувається не при всіх запальних реакціях, а лише у відповідь на певні стимули (взаємодію антиген - антитіло, пошкодження клітин, наприклад, при опіку), і що, таким чином, організм має різні механізми ініціації та розвитку запалення, що використовуються залежно від природи стимулу. Слід зазначити, що на той час вже було відомо [9, 10] про причетність гістаміну та серотоніну до патогенезу асептичного запалення, викликаного карагіненом, виконаних у тому числі і на моделі карагіненового плевриту у щурів. Наведене показує, як артефактні дані [11] призвели до висновків, що суперечать уявленню про типові патологічні процеси, основним з яких є запалення. Так само, як висновки [14] про непричетність ТК до патогенезу інфекційного запалення (на відміну від асептичного), спростований в попередній праці [5].

N.A.Klimenko, Ye.A.Pavlova

MAST CELLS IN FOCUS OF THE CARRAGEENEN-INDUCED ACUTE ASEPTIC INFLAMMATION

On the model of carrageenin-induced acute aseptic peritonitis in rats the regularities of the functional state of mast cells (MC), of the content of free and cellular histamine in exudate and mesenterium and histamine in blood from the 5th minute up to 10th day after injection of phlogogene have been studied. Also as in infectious inflammation, the phasic reaction of MC which is observed at least during 10 days after action of phlogogene has been shown. The quick short first phase during half an hour after induction of inflammation has been

observed and the gradual long second phase from the 1th hour up to 10th day has been noted. At least during 1th day the regularities of reaction of MC were extremely similar to the ones in infection peritonitis. Also as in infectious inflammation the second phase of reaction of MC correlates with the accumulation of leukocytes in inflammatory focus. At the same time the dependence of dynamics of functional changes of MC in aseptic inflammation on the properties of phlogogene (irritating or relatively indifferent phlogenes) has been established.

Medical Institute, Kharkov,
Ministry of Public Health, Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Александров П.Н., Сперанская Т.В. Динамика карагиневого воспаления в условиях применения оксипутирата лития. - Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1988. - 106, № 8. - С. 233-235.
2. Иммунологические методы / Под ред. Г.Фримеля: Пер. с нем. - М.: Медицина, 1987. - 472 с.
3. Клименко М.О. До методу морфологічного вивчення та підрахування тучних клітин змивів серозних порожнин // Фізіол. журн. - 1977. - 23, № 5. - С. 705-707.
4. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1993. - 116, № 9. - С. 549-553.
5. Клименко М.О., Татарко С.В. Тучні клітини у вогнищі гострого інфекційного запалення // Фізіол. журн. - 1992. - 38, № 1. - С. 64-68.
6. Липищ Р.У., Клименко Н.А. Освобождение гистамина и серотонина и проницаемость сосудов в очаге острого асептического воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1977. - 84, № 12. - С. 660-664.
7. Липищ Р.У., Клименко Н.А. Тучные клетки, гистамин и серотонин в сенсibilизированном организме // Физиол. журн. - 1982. - 28, № 5. - С. 616-619.
8. Чернух А.М. Воспаление (Очерки патологии и экспериментальной терапии). - М.: Медицина, 1979. - 448 с.
9. Capasso F., Dunn C.J., Yamamoto S. et al. Pharmacological mediators of various immunological and non-immunological inflammatory reactions produced in the pleural cavity // Agents and Actions. - 1975. - 5, № 5. - P. 528-533.
10. Di Rosa M., Giroud J.P., Willoughby D.A. Studies of the mediators of acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine // J. Pathol. - 1971. - 104, № 1. - P. 15-29.
11. Horakova Z., Bayer B.M., Almeida A.P., Beaven M.A. Evidence that histamine does not participate in carrageenan-induced pleurisy in rat // Eur. J. Pharmacol. - 1980. - 62, № 1. - P. 17-25.
12. Mota I., da Silva W.D. The antianaphylactic and histamine releasing properties of the antihistamines. Their effect on the mast cells // Brit. J. Pharmacol. - 1960. - 15, № 3. - P. 396-404.
13. Ryan G.B., Majno G. Acute inflammation // Amer. J. Pathol. - 1977. - 86, № 1. - P. 185-274.
14. Smith D.D., Miles A.A. The role of histamine in early bacterial inflammation of the rat peritoneal cavity // Brit. J. Exp. Pathol. - 1960. - 41, № 3. - P. 305-312.

Харків. мед. ін-т
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 25.04.94