

М.О. Клименко, Г.Ю. Пишнов

Замісний вплив екзогенних гістаміну, серотоніну і гепарину на лейкоцитарну реакцію при запаленні

На моделі острого інфекційного перитоніта, викликаного E.coli, у крыс с попередньо удаленными из брюшной полости тучными клетками изучено влияние на лейкоцитарную реакцию очага воспаления и крови заместительного введения разных доз гистамина, серотонина и гепарина а также комплекса этих веществ. Показано, что в механизмах модулирующего влияния тучных клеток на лейкоциты имеют значение все примененные вещества. Эффекты, аналогичные по направленности влиянию тучных клеток на лейкоциты, наиболее оказывают гистамин и особенно комплекс веществ.

ВСТУП

У наших попередніх дослідженнях [3, 4] показано, що при запаленні, викликаному без наявності тучних клітин (ТК), посилюється активація нейтрофілів і пригнічується - моноцитів вогнища і крові і що, таким чином, за природних умов запалення ТК стримують нейтрофіли і стимулюють моноцити, тобто є модуляторами лейкоцитарної реакції. З метою з'ясування механізмів впливу ТК на лейкоцити досліджено лейкоцитарну реакцію вогнища запалення і крові за умов замісного (на фоні попереднього видалення ТК) введення основних тучноклітинних продуктів - гістаміну, серотоніну та гепарину.

МЕТОДИКА

Досліди виконані на 78 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Моделлю запалення був гострий інфекційний перитоніт, викликаний внутрішньоочеревинним введенням 2 млрд. ($1/2$ ЛД₅₀) добової культури E.coli, виділеної від хворого на перитоніт, у 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду [2, 4]. Тварин декапітували через 3 год і 3 доби - строки, що відповідають максимумам нейтро-

фільної і моноцитарно-макрофагальної реакцій відповідно у вогнищі запалення [4]. Підраховували загальну кількість лейкоцитів в ексудаті та крові і склад їх популяцій. Маркером функціональної активності нейтрофілів була мієлопероксидаза [К.Ф. 1.11.1.7.], моноцитів-макрофагів - α -нафтилацетат-естераза, лейкоцитів обох типів - кисла (КФ) [К.Ф. 3.1.3.2.] та лужна (ЛФ) [К.Ф. 3.1.3.1.] фосфатази і лактатдегідрогеназа [К.Ф. 1.1.1.27]. Вміст мієлопероксидази та α -нафтилацетат-екстерази визначали цитохімічно за методами Грехема-Кнолля та Леффлера [5], активність КФ, ЛФ і лактатдегідрогенази - у супернатантах ексудату та сироватці крові за допомогою наборів реактивів "Лахема" (Чехія) і "Labsystems" (Фінляндія) на біохімічному аналізаторі FP-901 "Labsystems". Функціональну активність нейтрофілів оцінювали також на підставі НСТ-тесту [7].

Ексудат отримували промиванням черевної порожнини 5 мл ізотонічного розчину натрію хлориду, який містив 5 ОД гепарину в 1 мл.

ТК черевної порожнини усували внутрішньоочеревинним введенням 10 мл стерильної дистильованої води на 100 г маси за 10 діб до відтворення перитоніту [6]. У разі вив-

чення нейтрофільної реакції препарати вводили одноразово, одночасно з запальним агентом, у дозах: гістамін - 10, 100 та 1000 мкг, серотонін - 1, 10 та 100 мкг, гепарин - 30, 100 та 300 ОД, комплекс речовин 100 мкг, 10 мкг та 100 ОД відповідно. При вивченні моноцитарної реакції вводили комплекс речовин у вказаних дозах одночасно з флогогеном і далі двічі на добу. Вибираючи дози, керувалися даними літератури про співвідношення цих речовин у ТК, про їх вміст у вогнищі запалення та про кількості, які вводять ззовні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На накопичення нейтрофілів в ексудаті впливали, зменшуючи його, гістамін у всіх випробуваних дозах і гепарин - 30 ОД (рис. 1). Вміст мієлопероксидази в нейтрофілах знижували гістамін (1000 мкг), серотонін (1 та 10 мкг), гепарин у всіх застосованих дозах, але підвищував комплекс речовин. Активність ЛФ дуже зменшувалася під впливом 30 та 300 ОД гепарину та дещо збільшувалася при дії 10 мкг гістаміну. На активність лактатдегідрогенази, яка за умов усунення ТК зменшувалася порівняно з природним перебігом запалення [4], впливали, підвищуючи її, гістамін у дозах 100 і 1000 мкг, серотонін у всіх дозах, гепарин (30 і 300 ОД) і комплекс речовин. Показники НСТ-тесту нейтрофілів ексудату, які зменшувалися при видаленні ТК [4], дещо підвищувалися при введенні 1000 мкг гістаміну та значно - комплексу речовин (див. рис. 1).

Вміст мієлопероксидази в нейтрофілах крові знижували гістамін у дозі 1000 мкг, серотонін - 1 мкг і гепарин - 300 ОД (рис. 2). Активність КФ у сироватці крові зменшувалася під впливом 10 мкг серотоніну. Активність ЛФ значно підвищувалася при дії 10 і 100 мкг гістаміну, 100 ОД гепарину і комплексу речовин та дещо - 10 мкг серотоніну. На активність лактатдегідрогенази впливали, істотно знижуючи її, гістамін у дозі 10 мкг, серотонін - 1 та 10 мкг, гепарин - 100 ОД і

комплекс речовин і, підвищуючи, - 1000 мкг гістаміну, 100 мкг серотоніну та 300 ОД гепарину. Показники НСТ-тесту нейтрофілів крові підвищувалися при введенні 1000 мкг гістаміну та 10 мкг серотоніну, особливо - комплексу речовин та зменшувалися при дії 300 ОД гепарину (див. рис. 2).

У разі вивчення замісного впливу комплексу речовин на моноцитарну реакцію встановлено підвищення загальної кількості лейкоцитів у ексудаті, вмісту α -нафтилацетат-естерази в моноцитах та зниження активності лактатдегідрогенази в ексудаті (рис. 3,а); зменшення загальної кількості лейкоцитів у крові та активності лактатдегідрогенази у сироватці крові (рис. 3,б).

Отримані результати показують, що кожна з використаних речовин тим чи іншим чином впливає на лейкоцити. Це свідчить про те, що в механізмах модулюючої дії ТК на лейкоцитарну реакцію мають значення гістамін, серотонін і гепарин і що тучноклітинні аміни є не тільки медіаторами судинно-ексудативних, а й модуляторами інфільтративних явищ при запаленні.

Напрямки змін показників функціонального стану лейкоцитів під впливом різних доз одного й того ж препарату можуть відрізнитися, що вказує на дозозалежність ефектів гістаміну, серотоніну і гепарину на лейкоцити.

Оскільки напрямки і суми ефектів окремих речовин не завжди збігаються з впливом їх комплексу, можна зробити висновок про те, що дія гістаміну, серотоніну і гепарину на лейкоцити є комплексною і здійснюється на засадах не тільки адитивності, а й синергізму та антагонізму. Слушно зауважити, що комплексний ефект медіаторів, мабуть, залежить не стільки від концентрацій, співвідношень і взаємодуляції їх біологічної активності, скільки від експресії та співвідношення рецепторів для різних медіаторів і різних типів рецепторів для одного медіатора (наприклад, гістамінових H_1 - і H_2 -рецепторів, серотонінових S_1 - і S_2 -рецепторів), а також їх чутливості до медіаторів [1].

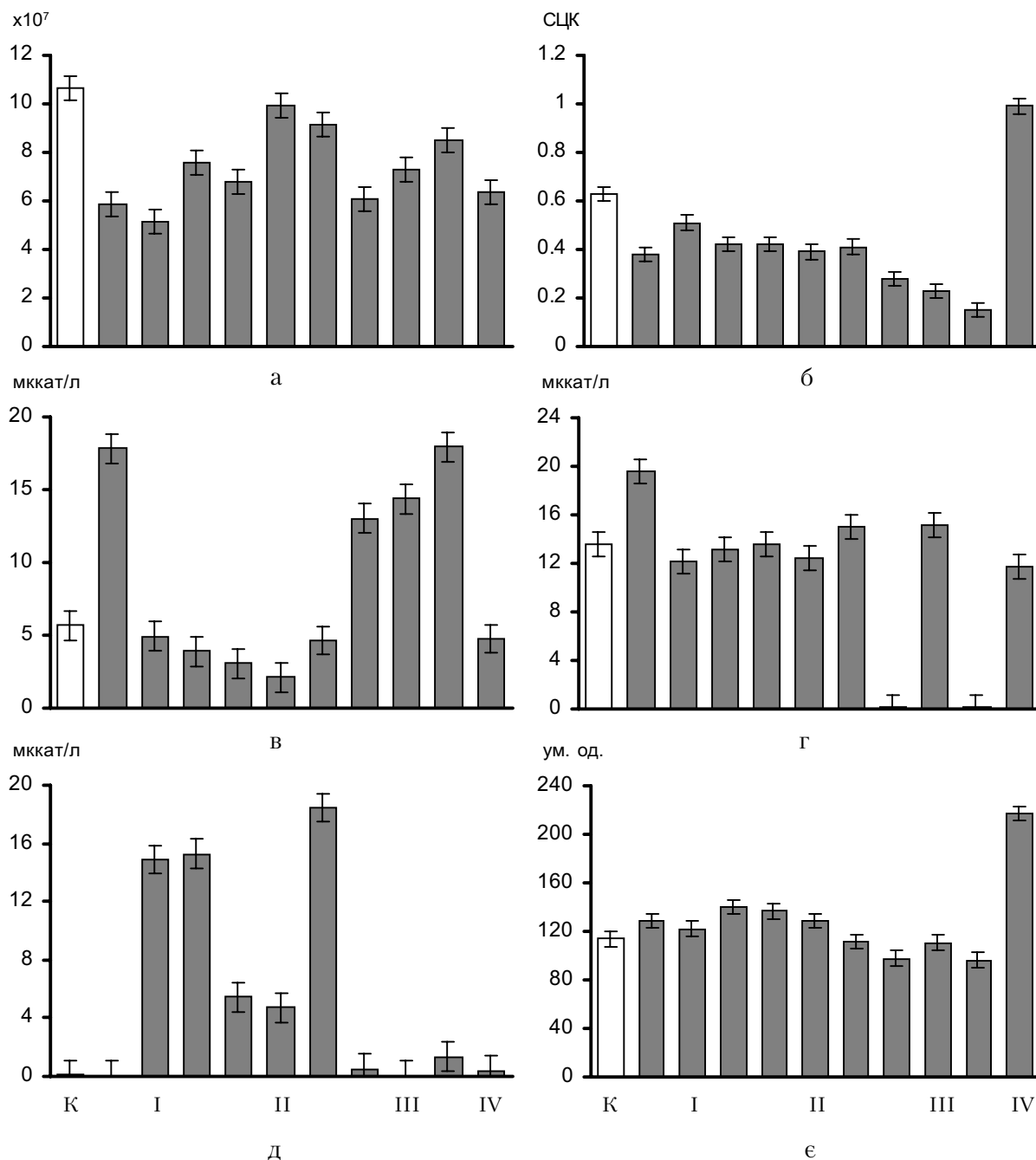


Рис. 1. Загальна кількість лейкоцитів (а), вміст МПО в нейтрофілах (б), активність КФ (в), ЛФ (г) та ЛДГ (д), показники НСТ-тесту лейкоцитів (е) в ексудаті на 3-ю годину після відтворення гострого інфекційного перитоніту у щурів на фоні попереднього видалення ТК (К-контроль) і замісного введення відповідно 10, 100 і 1000 мкг гістаміну (1), 1, 10 і 100 мкг серотоніну (2), 30, 100 і 300 ОД гепарину (3) і комплексу речовин – 100 мкг гістаміну, 10 мкг серотоніну і 100 ОД гепарину (4).

Результати дослідження також свідчать, що ефекти, аналогічні за напрямком впливу

ТК [4] на нейтрофіли (пригнічення) найбільш відтворює гістамін і особливо - комплекс ре-

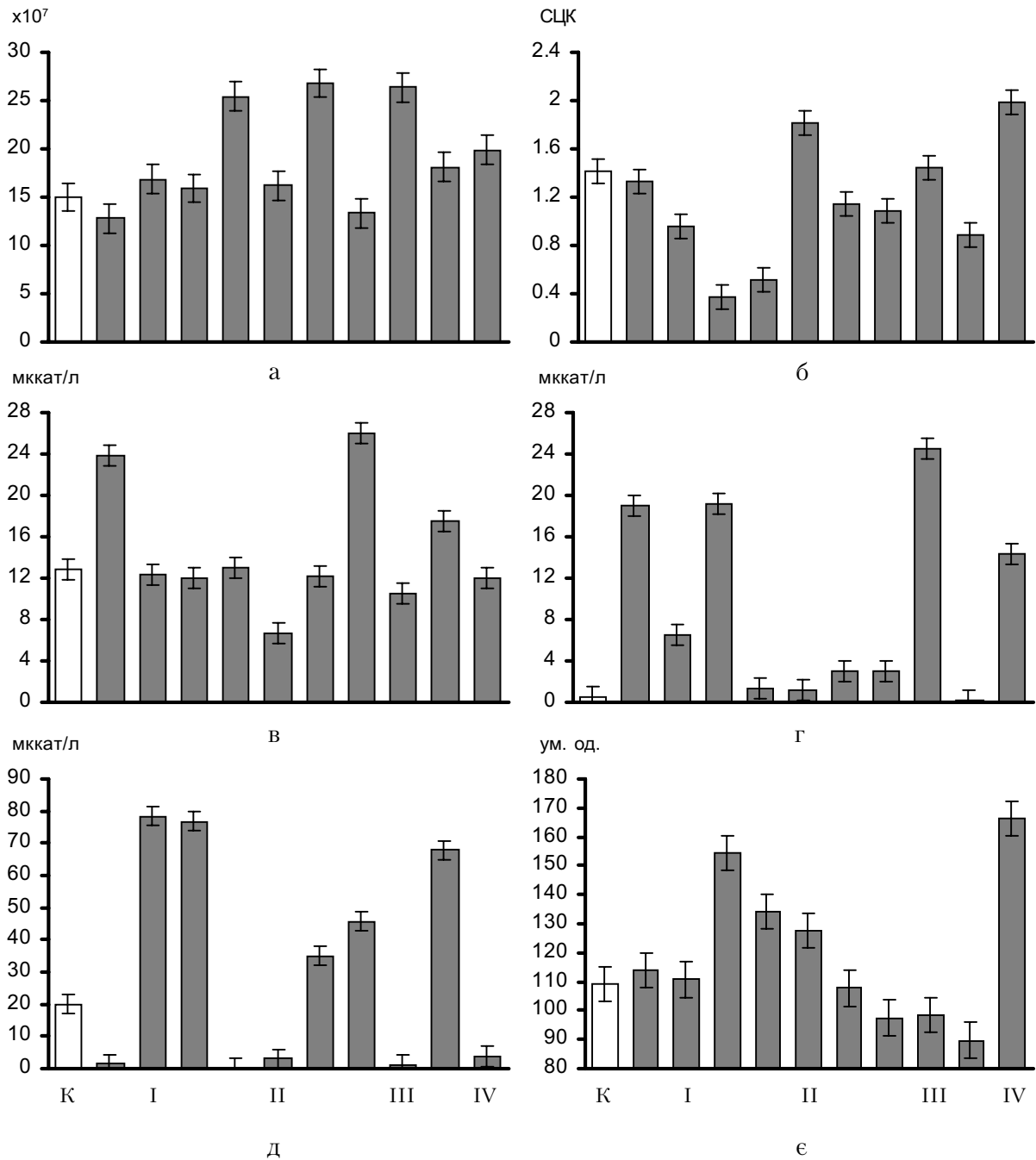


Рис. 2. Загальна кількість лейкоцитів (а), вміст МПО в нейтрофілах (б), активність КФ (в), ЛФ (г) та ЛДГ (д), показники НСТ-тесту лейкоцитів (е) в крові на 3-ю годину після відтворення гострого інфекційного перитоніту у щурів на фоні попереднього видалення ТК (К-контроль) і замінного введення відповідно 10, 100 і 1000 мкг гістаміну (1), 1, 10 і 100 мкг серотоніну (2), 30, 100 і 300 ОД гепарину (3) і комплексу речовин – 100 мкг гістаміну, 10 мкг серотоніну і 100 ОД гепарину (4).

човин. Останній також багато в чому відтворює і ефект ТК на моноцити (стимуляція).

Так, при введенні комплексу зменшується інфлюкс до вогнища нейтрофілів і збіль-

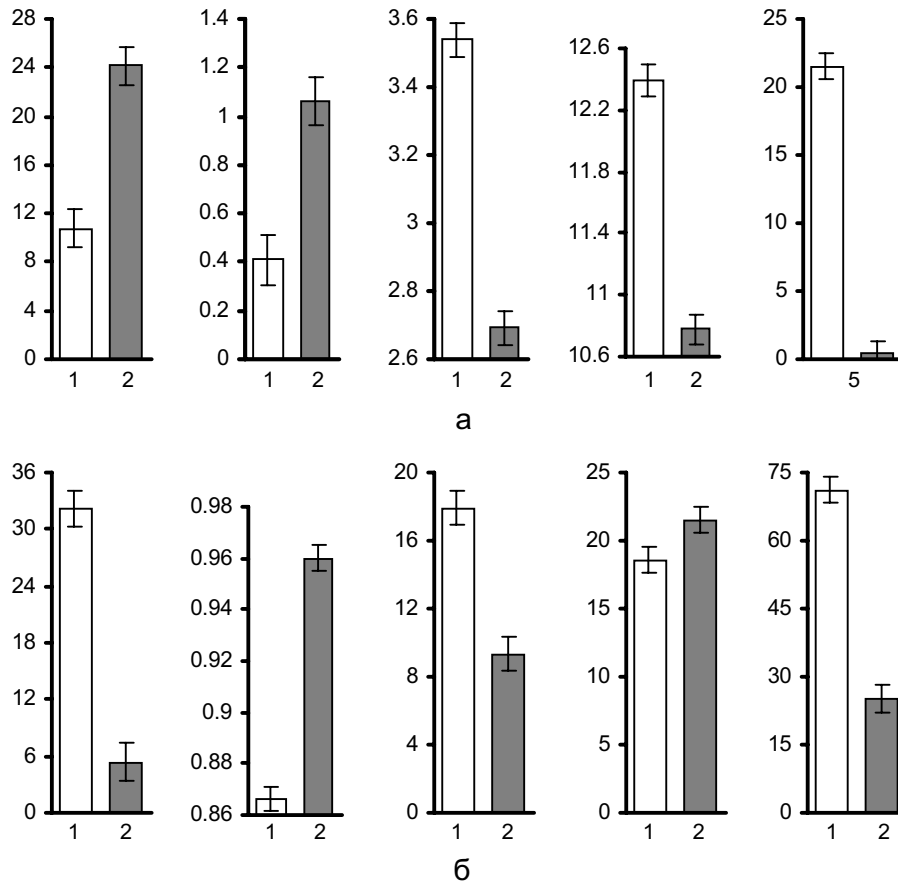


Рис. 3. Загальна кількість лейкоцитів (а), вміст НАЕ в моноцитах (б), активність КФ (в), ЛФ (г) та ЛДГ (д) в ексудаті (А) та крові (Б) на 3-ю добу після відтворення гострого інфекційного перитоніту у щурів на фоні попереднього видалення ТК (1); замісного введення комплексу речовин – 100 мкг гістаміну, 10 мкг серотоніну і 100 ОД гепарину (2).

шується - моноцитів, дещо знижується секреція нейтрофілами ферментів, помітно підвищуються показники НСТ-тесту, активність α -нафтилацетат-естерази в моноцитах збільшується. Це також доводить, що за природних умов запалення гістамін, серотонін і гепарин здійснюють комплексний вплив на лейкоцити.

Оскільки модуляторний вплив гістаміну та серотоніну на лейкоцити полягає у пригніченні нейтрофілів і стимуляції моноцитів, які відповідно відіграють головну роль в альтернативних і репаративних явищах, тобто у розвитку і вщуханні запалення, можна зробити висновок про те, що, крім відомих про-

запальних судинно-ексудативних ефектів, тучноклітинні аміни чинять протизапальні клітинні ефекти і, таким чином, відіграють дуалістичну роль у патогенезі запалення.

Отримані результати узгоджуються з деякими даними літератури про вплив основних біологічно активних продуктів ТК на лейкоцити *in vitro*. Так, показано, що гістамін через H_1 -рецептори посилює, а через H_2 -рецептори пригнічує хемокінез, хемотаксис, дегрануляцію активованих нейтрофілів [11, 14-16], через H_1 -рецептори підвищує секрецію, утворення аніона супероксиду та хемілюмінісценцію моноцитів [9,10]. Серотонін стимулює хемокінез, хемотаксис і секрецію

мононуклеарів [12,15]. Гепарин викликає агрегацію поліморфноядерних лейкоцитів, пригнічує лейкоцитарні протеїнази, що звільнилися [8,13].

Слід також зауважити, що в механізмах модулюючого впливу ТК на лейкоцити істотну роль можуть відігравати біологічно активні продукти ТК (хемотаксичні фактори, фактор, який активує тромбоцити, метаболіти арахідонової кислоти, аденозин, ферменти тощо), а також нетучноклітинні медіатори, в регуляції продукції яких ТК мають значення як одна з перших ланок усього каскаду медіаторної системи.

N.A. Klimenko, G.Yu.Pyshnov

REPLACING EFFECTS OF EXOGENOUS HISTAMINE, SEROTONIN AND HEPARIN ON LEUKOCYTIC REACTION IN INFLAMMATION

On the model of E.coli - induced acute infectious peritonitis in rats previously depleted on mast cells of peritoneal cavity the replacing effects of various doses of exogenous histamine, serotonin and heparin and their complex on leukocytic reaction of inflammatory focus and blood were studied. It was shown that all of the used substances had a meaning in the mechanisms of modulating effect of mast cells on leukocytes. The analogous on direction to mast cells' ones effects on leukocytes were produced mostly by histamine and especially by the complex of substances.

Kharkov State Medical University, Ministry of Public Health of the Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. - Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1992. - 276 с.
2. Клименко Н.А. Взаимодействие тучных клеток с лейкоцитами в повышении проницаемости сосудов очага воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1992. - 113, N 1. - С. 28-30.

3. Клименко Н.А., Дыгай А.М., Абрамова Е.В. и др. Роль тучных клеток в реакциях систем крови при воспалении // Там же. - 1991. - 112, N 9. - С. 305-307.
4. Клименко М.О., Пишнов Г.Ю. Роль тучных клеток в инфльтративных явищах при запаленні // Фізіол. журн. - 1997. - 43, N 3-4. - С. 33-39.
5. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
6. Липшиц Р.У., Клименко Н.А. Освобождение гистамина и серотонина и проницаемость сосудов в очаге острого асептического воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1977. - 84, N 12. - С. 660-664.
7. Шубич М.Г., Медникова В.Г. NBT-тест у детей в норме и при гнойно-бактериальных инфекциях // Лаб. дело. - 1978. - N 9. - С. 515-518.
8. Berliner S., Fishelson Z., Wasserman L. et al. Synergism between zymosan-activated serum and heparin in the induction of polymorphonuclear leukocyte aggregation // Biomed. Pharmacother. 1988. - 42. - P. 69-72.
9. Casale T.B., Wescott S., Rodbard D., Kaliner M. Characterization of histamine H-1 receptors on human mononuclear cells // Int. J. Immunopharmac. - 1985. - 7. - P. 639-645.
10. Diaz P., Jones D.G., Kay A.B. Histamine receptor on guinea - pig alveolar macrophages: chemical specificity and the effect of H₁- and H₂-receptor agonists and antagonists // Clin. Exp. Immunol. - 1979. - 70. - P. 82-87.
11. Mannaioni P.F., Fantozzi R., Giannella E., Masini E. Pathophysiological significance of the distribution of histamine receptor sub-types: a proposed dual role for histamine in inflammation and type I hypersensitivity reactions // Agents Actions. - 1988. - 24. - P. 26-34.
12. Paegelow I., Werner H. Acute inflammation, inflammatory mediators and mononuclear cell reaction // Wiss. Beitr. M. Luther - Univ. Halle-Wittenberg. - 1987. - N 100. - P.114-123.
13. Redini F., Tixer J.-M., Petitou M. et al. Inhibition of leukocyte elastase by heparin and its derivatives // Biochem. J. 1988. - 252. - P. 515-519.
14. Seligmann B.E., Fletcher M.P., Gallin J.I. Histamine modulation of human neutrophil oxidative metabolism, locomotion, degranulation, and membrane potential changes // J. Immunol. 1983. - 130. - P. 1902-1909.
15. Spisani S. Interaction between neutrophils and mediators of inflammation // Adv. Exp. Med. Biol. - 1982. - 141. - P. 29-37.
16. Van Epps D.E., Kutvirt S.G., Potter J.W. In vitro effects of cetirizine and histamine on human neutrophil function // Ann. Allergy. - 1987. - 59. - P. 13-19.

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

Матеріал надійшов до редакції 29.01.99