

М. СОЛЛЬ

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ГИСТАМИНА, АКТИВНОСТЬ ГИСТАМИНАЗЫ И СЫВОРОТОЧНОЙ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В ЛИМФЕ И КРОВИ ОВЕЦ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЛИМФОПОТЕРЕ

Одним из важнейших вопросов нормальной и патологической физиологии, а также биохимии, является установление участия различных органов и тканей в образовании ферментов и в доставлении этих ферментов в лимфатическую и кровеносную системы. Б. Кадыков и А. Федорова (1956) показали, что у собак и кошек гистаминаза из органов поступает в лимфатическую, а через нее в кровеносную систему. Следовательно, лимфатическая система служит руслом для транспорта гистаминазы.

Для выяснения, поступают ли гистамин и гистаминаза у овец в кровь непосредственно или же через лимфатическую систему, на овцах был поставлен ряд опытов, в ходе которых определялось содержание гистамина и активность гистаминазы, а также сывoroточной холинэстеразы в крови и лимфе при 24- и 48-часовой лимфопотере

Методика

Опыты проводились на 14 баранах в возрасте от 1 до 2 лет эстонской темноголовой породы с живым весом от 45 до 65 кг. Лимфа бралась из грудного лимфатического протока операционным путем по методу Месипуу (Mesipuu, 1966), а кровь — из яремной вены. Скорость истечения лимфы, которая выпускалась через каниюлю 24 и 48 ч, определялась отсчетом капель в единицу времени. Для этого применялся счетчик, который был присоединен через электромагнитное реле к самописцу. Общий белок в сывoroтке лимфы определялся рефрактометром.

Содержание гистамина и активность гистаминазы устанавливались методом Розенталя и Тобора (Rosenthal, Tabor, 1948), основанным на диазореакции с *n*-нитроанилином. Для выяснения активности гистаминазы бралось 0,5 мл сывoroтки и добавлялось 2,5 мл фосфатбуферного раствора, содержащего 10 мкг гистаминдихлорида. Пробы инкубировались в течение 2 ч в термостате при температуре 37°C. Во время инкубации пробы встряхивались и насыщались кислородом. Содержание активного сывoroточного гистамина определялось биологически на роге матки неполовозрелой морской свинки по силе сокращений мышц матки (Dale, Laidlaw, 1910/1911). Для этого матки помещалась в раствор Тироде, куда добавлялась также изучаемая сывoroтка в разведении 1:10 или 1:20. Активность рога матки по отношению к гистамину зависела от концентрации раствора.

Активность сывoroточной холинэстеразы определялась методом Хестрина (Hestrin, 1949). Для этого бралось 0,5 мл сывoroтки и добавлялось 2,5 мл боратного буфера, содержащего 3,96 мкмоля ацетилхолинхлорида. Пробы инкубировались в течение 30 мин при температуре 37°C. Спектрофотометром измерялась интенсивность окраски пробы, которая зависела от количества содержащегося в ней ацетилхолина.

Содержание гистамина выражено в микрограммах на 1 мл сыворотки ($\mu\text{кг}/\text{мл}$), а активность гистаминазы — в микрограммах гистамина, разрушающегося в течение одного часа в 1 мл сыворотки ($\mu\text{кг}/\text{мл}\cdot\text{ч}$).

Данные анализов обработаны методом одно- и двухфакторного дисперсионного анализа (Плохинский, 1967).

Результаты и обсуждение

Данные о содержании гистамина, активности гистаминазы и сывороточной холинэстеразы в сыворотке крови и лимфы в начале опыта совпадали с данными, полученными ранее (Соль, 1969). На рис. 1 приведены показатели лимфопотери в течение 24 ч (через каждые 3 ч). Уже в течение первых 3 ч опыта содержание гистамина в лимфе увеличивалось и оставалось на достигнутом уровне до конца 24-часовых опытов (рис. 2).

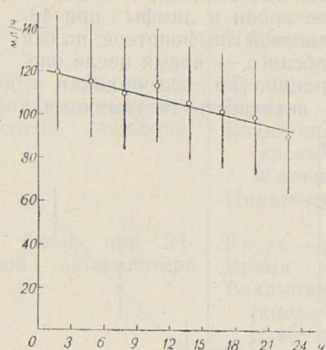


Рис. 1. Количество лимфы, вытекающей при 24-часовой лимфопотере; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — количество лимфы.

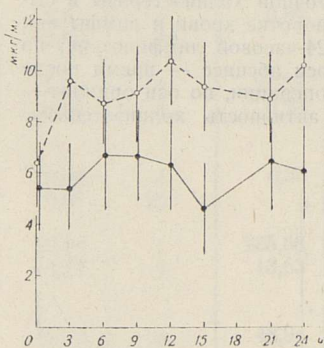


Рис. 2. Динамика содержания общего гистамина при 24-часовой лимфопотере; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — содержание общего гистамина.

— сыворотка крови,
- - - сыворотка лимфы (то же см. на рис. 3—6 и 8).

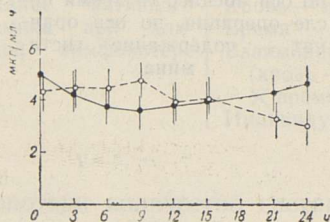


Рис. 3. Динамика активности гистаминазы при 24-часовой лимфопотере; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — активность гистаминазы.

Наши ранние непродолжительные опыты показали, что первоначальное повышение содержания гистамина в лимфе наблюдалось уже в течение первого часа опыта. В то же время содержание гистамина в сыворотке крови существенно не изменилось. Заметно не влияла на содержание гистамина в сыворотке крови и 24-часовая лимфопотеря (таблица, рис. 2), а также за это время не изменилась и активность гистаминазы (таблица, рис. 3) и сывороточной холинэстеразы как в крови, так и лимфе. При этом следует обратить внимание на то, что активность сывороточной холинэстеразы в крови была всегда выше, чем в лимфе (таблица, рис. 4). Это позволяет сделать вывод, что лимфопотеря не влияет на активность сывороточной холинэстеразы в крови.

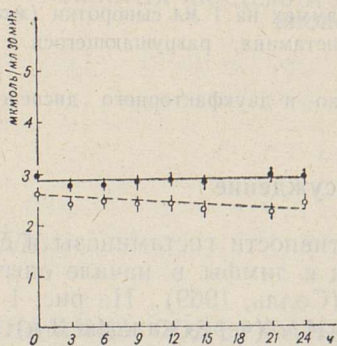


Рис. 4. Активность сывороточной холинэстеразы в сыворотке крови и лимфы при 24-часовой лимфопотере; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — активность холинэстеразы.

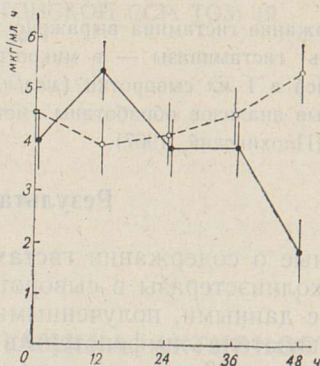


Рис. 5. Динамика активности гистаминазы в сыворотке крови и лимфы при 48-часовой лимфопотере; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — активность гистаминазы.

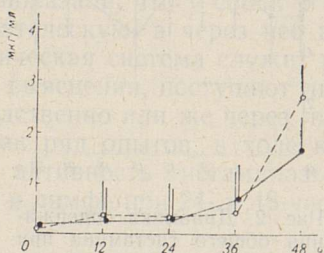


Рис. 6. Динамика содержания активного гистамина в сыворотке крови и лимфы при 48-часовой лимфопотере; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — содержание активного гистамина.

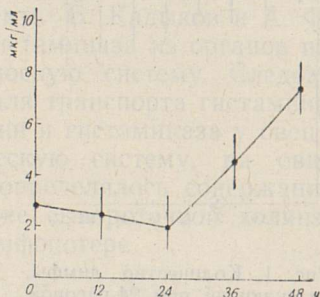


Рис. 7. Динамика содержания общего гистамина в сыворотке крови, определяемого химическим методом; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — содержание гистамина.

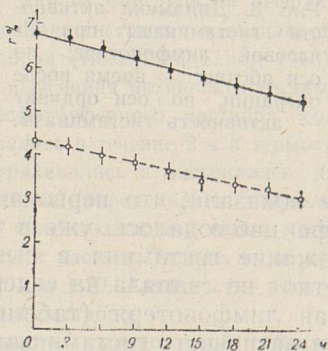


Рис. 8. Динамика концентрации общего белка в сыворотке крови и лимфы при 24-часовой лимфопотере; по оси абсцисс — время после операции, по оси ординат — концентрация общего белка.

После 48-часовой лимфопотери активность гистаминазы в крови значительно снизилась (критерий ошибки 2,02 мкг/мл·ч; рис. 5), а количество активного гистамина, определяемого при помощи биологического теста, увеличилось (таблица, рис. 6). Необходимо отметить, что в начале

Результаты дисперсионного анализа

Объект анализа	Источник вариации	Дисперсия σ^2	Степень свободы f	Критерий Фишера F	Достоверность влияния P
Содержание гистамина при 24-часовой лимфопотере	Кровь — лимфа	361,6	1	14,37	<0,01
	Время	11,1	7	0,44	>0,5
	Взаимодействие (кровь — лимфа) × время	7,8	7	0,31	>0,5
	Индивидуальное	27,7	128		
Активность гистаминазы при 24-часовой лимфопотере	Кровь — лимфа	0,28	1	0,09	>0,5
	Время	1,76	4	0,59	>0,5
	Взаимодействие (кровь — лимфа) × время	2,6	4	0,89	>0,5
	Индивидуальное	2,90	80		
Активность сывороточной холинэстеразы при 24-часовой лимфопотере	Кровь — лимфа	5,2	1	21,75	<0,01
	Время	0,05	4	0,23	>0,5
	Взаимодействие (кровь — лимфа) × время	0,08	4	0,35	>0,5
	Индивидуальное	0,07	80		
Общий белок при 24-часовой лимфопотере	Кровь — лимфа	99,99	1	285,68	<0,01
	Время	4,77	8	13,63	<0,01
	Взаимодействие (кровь — лимфа) × время	17,13	8	48,94	<0,01
	Индивидуальное	0,35	134		
Активность гистаминазы при длительной лимфопотере	Кровь — лимфа	5,24	1	2,85	>0,1
	Время	1,79	4	0,95	>0,1
	Взаимодействие (кровь — лимфа) × время	8,63	4	4,56	<0,01
	Индивидуальное	1,86	80		
Содержание активного гистамина при длительной лимфопотере	Кровь — лимфа	0,21	1	0,17	>0,1
	Время	5,96	3	4,69	<0,01
	Взаимодействие (кровь — лимфа) × время	0,58	3	0,45	>0,1
	Индивидуальное	1,27	40		

лимфопотери количество гистамина в лимфе, по данным химического определения, увеличивалось, тогда как содержание активного гистамина, определяемого при помощи биологического теста, оставалось на прежнем уровне. Следует обратить внимание и на то, что содержание активного гистамина в сыворотке крови в начале опыта было всегда выше, чем в лимфе.

В конце опыта (48 ч лимфопотери) происходило увеличение содержания активного гистамина и в лимфе и в крови, но в лимфе в большей степени, чем в крови. После 24-часовой лимфопотери наблюдалось повышение содержания гистамина в сыворотке крови, определяемого химическим методом, которое достигало максимума после 48-часовой лимфопотери (рис. 7).

На рис. 8 показано, что при 24-часовой лимфопотере общий белок в сыворотке крови и лимфы понижается, что показано также Х. Айнсоном

(Ainson, 1968). Понижение продолжается до конца 48-часового опыта ($P < 0,01$).

Таким образом, проведенные нами исследования на овцах в условиях длительной лимфопотери (до 48 ч) показали, что содержание (активность) гистаминазы начинает снижаться в крови через 36 ч после начала лимфопотери, а содержание гистамина в это время постепенно увеличивается. При этом содержание гистамина, определяемого химическим методом, увеличивается в 2—2,5 раза, а биологическим методом — в десятки раз. На основании этих данных можно заключить, что гистаминаза у овец поступает в лимфатическую систему и далее вместе с лимфой направляется в общий круг кровообращения.

Понижение активности гистаминазы в крови приводит к компенсаторному повышению активности гистаминазы в лимфе, но эта компенсация в наших опытах не достигла своей цели, так как в данном случае лимфа поступала не в общий круг кровообращения, а во внешнюю среду.

Исходя из этого, можно сделать предположение, что в организме существуют достаточно тонкие регуляторные механизмы, поддерживающие определенный уровень гистаминазы в крови путем повышения или понижения поступления гистаминазы с лимфой грудного протока в общий круг кровообращения. Поскольку снижение активности гистаминазы в крови начинается только после полуторасуточной лимфопотери (отсутствие поступления гистаминазы через грудной проток в общий круг кровообращения), можно предположить, что продолжительность «существования» поступившей с лимфой в сосудистую систему гистаминазы ограничивается 1,5—2 сутками. Поэтому организм и нуждается в постоянном поступлении гистаминазы в общий круг кровообращения, что и осуществляется главным образом с лимфой грудного протока.

Выводы

1. При 24-часовой лимфопотере у овец содержание гистамина, определяемого химическим и биологическим методами, а также активность гистаминазы и сывороточной холинэстеразы в крови и лимфе не изменяются.

2. Через 36 ч с начала лимфопотери постепенно наступает снижение активности гистаминазы в крови и происходит повышение содержания гистамина как в крови, так и в лимфе.

3. При этих условиях наблюдается постоянное снижение общего белка как в крови, так и в лимфе.

4. После 36 ч лимфопотери активность гистаминазы в лимфе повышается.

ЛИТЕРАТУРА

- Кадыков Б. И., Федорова А. В., 1956. Образование гистаминазы и поступление ее в лимфатическую систему. Докл. АН СССР **110** (6) : 1038—1040.
- Плохинский Н. А., 1967. Алгоритмы. Изд. МГУ : 43—44.
- Солль М., 1969. Содержание гистамина, активность гистаминазы и холинэстеразы в сыворотке крови и лимфы овец. Изв. АН ЭстССР. Биол. **18** (4) : 367—370.
- Ainson H., 1968. Venosse vere ning tsentraalse ja perifeerse lümfi valgulise koostise omapärasel lammastel. ENSV TA Toimet. Biol. **17** (2) : 172—178.
- Dale H. H., Laidlaw P. P., 1910/11. The physiological action of beta-iminazolyethylamine. J. Physiol. (London) **41**, 318.
- Hestrin S., 1949. The reaction of acetylcholine and carboxylic acid derivatives with hydroxylamine and analytical application. J. Biol. Chem. **180** : 249—261.

- Mesipuu I., 1966. Kaela ja rinna lümfijuha venoossesse süsteemi suubumise iseärasused ja sealt lümfii saamise meetodika lammastel. ENSV TA Toimet. Biol. 15 (4) : 480—484.
- Rosenthal S. M., Tabor H., 1948. An improved colorimetric method for the estimation of histamine. J. Pharmacol. and Exptl Therap. 92 (4) : 425—431.

*Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
25/VIII 1969

M. SOLL

**VERESEERUMIS JA LÜMFIS SISALDUVA HISTAMIINI HULGA
HISTAMINAASI JA KOLIINESTERAASI AKTIIVSUSE DÜNAAMIKA
PIKAAJALISE LÜMFIIKAOOTUSE PUHUL**

Resümee

24-tunnine lümfikadu ei muuda histamiinisaldust ning histaminaasi ja seerumi koliinesteraasi aktiivsust ei lammaste vereseerumis ega lümfis.

Histaminaasi aktiivsuse langus vereseerumis algab pärast 36-tunnist lümfikadu, kusjuures tema aktiivsus lümfis tõuseb. Aktiivse histamiini sisaldus, mis määrati bioloogiliselt, suureneb samal ajal normiga võrreldes veres 10-kordseks ja lümfis 27-kordseks.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Ekspérimentaalbioloogia Instituut*

Saabus toimetusse
25. VIII 1969

M. SOLL

**THE DYNAMICS OF THE CONTENT OF HISTAMINE, OF THE ACTIVITY
OF HISTAMINASE AND CHOLINESTERASE IN THE BLOOD-SERUM AND
LYMPH IN DEPENDENCE ON THE LOSS OF LYMPH**

Summary

At the loss of the lymph of sheep during a period of 24 hours, no changes were stated in the content of histamine or in the activity of histaminase and cholinesterase of the blood-serum and lymph.

36 hours after the loss of lymph, the level of histaminase activity began to decline steadily in the blood-serum, while in the lymph it began to rise. At the same time, the biologically measured volumes of the active histamine in the blood rose 10 times, and in the lymph — 27 times over the normal levels.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology*

Received
Aug. 25, 1969