

HISTAMINA BAZOFILÓW KRWI OBWODOWEJ W HYMENOLEPIDOZIE DOŚWIADCZALNEJ U SZCZURÓW

WŁODZIMIERZ FAL, BARBARA BRAŃSKA, HALINA CZAPLICKA
i EWA GALARY

Zakład Biologii Ogólnej Akademii Medycznej, Wrocław

Robaczyce przewodu pokarmowego mogą wywoływać w organizmie żywiciela uczulenie typu bezpośredniego o charakterze anafilaktycznym [39]. Immunologiczna odpowiedź organizmu żywiciela na obecność pasożyta wzbudza szereg mechanizmów mających na celu uwolnienie mediatorów anafilaksji, np. z mastocytów tkankowych oraz z bazofilów krwi obwodowej. Jednym z mechanizmów jest obniżenie we krwi poziomu cAMP i aktywności supresyjnych limfocytów T, co wpływa jednocześnie na podwyższenie poziomu swoistych IgE, uwalniających z bazofilów w reakcji RAP jeden z głównych mediatorów alergii — histaminę [29].

Próbę wyjaśnienia mechanizmu degranulacji bazofilów i uwolnienia z ich wnętrza histaminy podjął Lagunoff [22], a także inni badacze [14, 15, 46]. Na uwolnienie histaminy z ziarnistości komórek tucznych i bazofilów ma wpływ wiele czynników chemicznych i fizycznych. Wśród nich — związek 48/80 oraz sporo innych substancji [7, 40, 46], przy czym mechanizm wydaje się być wspólny dla wszystkich bodźców: zawsze konieczna jest obecność jonów Ca^{++} i substratów glikolitycznych, a wyrzucanie granul wewnątrzkomórkowych poprzedzone jest zlewaniem się ich błon między sobą, następnie z błoną plazmatyczną komórki, po czym następuje egzocytoza.

Histamina jako jeden z mediatorów alergii typu bezpośredniego, obok serotoniny, SRS_A , kinin, prostaglandyn, acetylocholin, heparyny i cyklicznej adenylowej, ma charakter hormonu komórkowego i należy do nieswoistych czynników obronno-regulacyjnych. Do podstawowych elementów interakcji typu bezpośredniego należy IgE. Jak wynika z badań Ishizaka i wsp. [15] stan ten wykazuje wyższy poziom IgE w surowicy, czemu towarzyszy analogiczne zachowanie się obwodowych krwinek

eozynofilnych [3, 39]. Reakcja RAP działa drażniąco lub uszkadza komórki docelowe. Komórką docelową, w stosunku do której reaginy wykazują szczególne powinowactwo biologiczne, jest mastocyt i bazofil. Efektem RAP, na skutek związania antygeny przez przylegające do powierzchni komórek bazofilnych IgE, jest uwalnianie mediatorów z histaminą na czele.

Liczne badania poświęcone metabolizmowi histaminy i czynnikom regulującym jej poziom we krwi obwodowej oraz w tkankach wykonano w dużej mierze na gryzoniach, przeważnie na szczurach [2, 4, 5, 8, 12, 16, 17, 23, 25, 26, 34, 35, 36, 38, 41, 44]. Wyjaśniono w ten sposób między innymi mechanizm działania i funkcję IgE w degranulacji mastocytów tkankowych i bazofilów krwi obwodowej u szczurów i myszy [13, 27, 28, 37, 43] oraz problem reaginowych reakcji uczuleniowych u szczurów i wpływu Intalu na to zjawisko [21, 30]. Wykazano korelację poziomu histaminy pełnej krwi z liczbą zdegranulowanych mastocytów jelitowych szczurów, których proliferacja wzrastała pod wpływem deficytu Mg [20]. W badaniach o wpływie konkanawaliny A na wewnątrzmastocytarne kationy Ca^{++} regulujące wyzwalamie histaminy, stwierdzono odmiennosc działania tego bodźca od immunologicznej reakcji anafilaktycznej [45]. Badania nad wpływem zarażenia *Nippostrongylus brasiliensis* na liczbę bazofilów i poziom histaminy pełnej krwi u szczurów podają ścisłą korelację między bazofilią krwi obwodowej i poziomem histaminy pełnej krwi a ekspulsją robaków z przewodu pokarmowego, nie wspominając jednak o anafilaktycznym charakterze mechanizmu reakcji [33].

Celem naszych obserwacji była reakcja żywiciela specyficznego — szczura, zarażonego cysticerkoidami *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819), wyrażona liczbą komórek bazofilowych i poziomem histaminy bazofilów krwi obwodowej — jako efekt odpowiedzi immunologicznej.

Material i metoda

Do badań użyto 33 szczury rasy Wistar, samce z linii wsobnej, o wadze średnio 92,5 g, z których 27, wolnych od pasożytów przewodu pokarmowego, zarażono w siódmym tygodniu życia cysticerkoidami *H. diminuta* (Rudolphi, 1819), a 6 użyto do pomiarów kontrolnych. W grupie kontrolnej również wykluczono zarażenie robakami pasożytniczymi.

Szczury zarażone podzielono na trzy grupy (I, II, III) zależnie od liczby podanych cysticerkoidów (tab.). Zwierzęta zarażano doprzelykowo, za pomocą sondy plastikowej połączonej ze strzykawką. Każdej grupie zwierząt cysticerkoidy podawano w 1 ml soli fizjologicznej.

W grupie I — podano 4 cysticerkoidy na jednego szczura, w grupie II — 6 cysticerkoidów, a w grupie III — 8 cysticerkoidów. Cysticerkoidy uzyskano z własnej hodowli żywiciela pośredniego *Tenebrio molitor* L.

Pomiarów poziomu histaminy bazofilów krwi obwodowej oraz obliczenia liczby bazofilów dokonywano w 4 (badanie 1), 11 (badanie 2) i 39 dniu (badanie 3) po zarażeniu (tab.). W kolejnych badaniach przeprowadzono kontrolę zarażenia u wszystkich grup.

Krew pobierano przez dekapitację zwierząt. Poziom histaminy bazofilów oznaczano spektrofotofluorymetrycznie metodą Lichtensteina [24] w modyfikacji Stahl Skov [42], na spektrofotofluorymetrze Perkin-Elmer MPF, przy spectrum 355/455.

TABELA

Poziom histaminy bazofilów krwi w ng/ml krwi oraz liczba bazofilów w 1 mm³ krwi u szczurów zarażonych cysticerkoidami *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819)

TABLE

Basophil histamine level (ng/ml of blood) and number of basophils per 1 mm³ of blood in rats infected with *Hymenolepis diminuta* cysticeroids

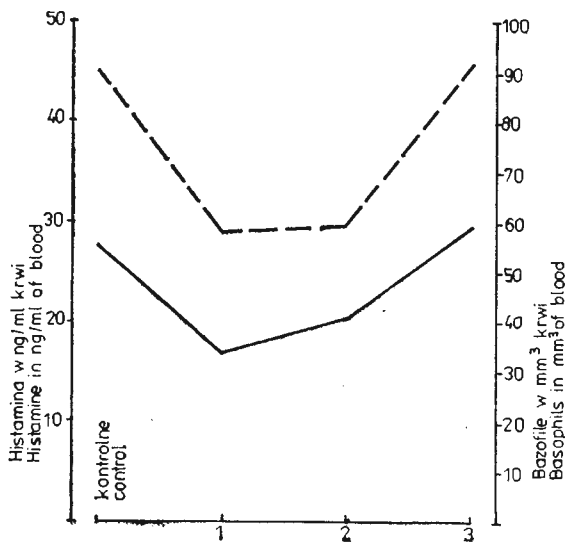
Badanie Examination	1		2		3	
Dni od zarażenia Days after infection	4		11		39	
Grupa Group	Bazofile Basophils	Histamina Histamine	Bazofile Basophils	Histamina Histamine	Bazofile Basophils	Histamina Histamine
I	67 62-69	17,1 16,9-17,4	63 59-69	21,8 21,0-22,4	90 85-92	27,5 26,5-28,0
II	53 50-60	17,1 17,0-17,2	52 49-55	18,3 18,1-18,6	90 85-92	28,6 28,0-29,0
III	53 49-61	16,8 16,5-17,0	62 59-67	21,2 20,0-22,5	95 88-100	32,6 30,0-34,0
Kontrolna Control group	90 82-98	27,5 25,0-30,0	90 88-92	27,5 27,0-28,0	90 85-95	27,5 26,5-28,5

Wyniki i omówienie

Poziom histaminy bazofilów krwi obwodowej u szczurów kontrolnych wyniósł średnio 27,5 ng/ml krwi (25,0–30,0 ng/ml), a liczba bazofilów — 90/mm³ krwi (82–98/mm³).

W badaniu 1 we wszystkich trzech grupach szczurów wykazano znaczny spadek poziomu histaminy bazofilów — łącznie o 38%, jak i liczby

bazofilów o 35,50%, w porównaniu z wynikami kontrolnymi. W poszczególnych grupach (I, II, III) stwierdzono nieznaczne tylko różnice poziomu histaminy bazofilów. Natomiast nieco większą liczbę bazofilów obserwowano jedynie w grupie I (tab.). Średnio poziom histaminy bazofilów krwi wyniósł 17,0 ng/ml, a liczba bazofilów — 58/mm³ krwi (ryc.).



Ryc. Histamina bazofilów krwi obwodowej w ng/ml krwi i bazofile w mm³ krwi w badaniach 1, 2 i 3

———— histamina, — — — — bazofile

Fig. Basophil histamine level in ng/ml of blood and number of the basophils in mm³ of the blood in examinations 1, 2 and 3

———— histamine, — — — — basophils

W badaniu 2 poziom histaminy bazofilów był niższy o 26%, a liczba bazofilów spadła do 34%, w porównaniu z grupą kontrolną. Jednakże w porównaniu z wynikami, jakie uzyskano w badaniu 1, poziom histaminy bazofilów krwi i liczba bazofilów były w tym badaniu wyższe, szczególnie w grupie I i III (tab.). Poziom histaminy wzrósł średnio do 20,4 ng/ml, a liczba bazofilów wynosiła 59/mm³ krwi.

W badaniu 3 nastąpił wzrost poziomu histaminy i liczby bazofilów do wartości kontrolnej, w grupach I i II. W grupie III poziom histaminy bazofilów i liczba bazofilów wzrasta ponad poziom wyników kontrolnych (tab.). Średnio w badanych grupach poziom histaminy bazofilów wzrósł do 29,5 ng/ml, a liczba bazofilów do 92/mm³ krwi (ryc.).

W badaniu 2 i 3 przeprowadzona kontrola zarażenia wykazała u badanych szczurów obecność dojrzałych tasiemców w przewodzie pokarmowym.

Wyniki te wydają się sugerować, że w przypadku zarażenia tasiemcem *H. diminuta*, dawka cysticerkoidów jest mniej istotna dla wzbudzenia zmian poziomu histaminy bazofilów i liczby bazofilów krwi obwodowej; skalę reakcji żywiciela, w którym dojrzewają tasiemce determinuje raczej obecność antygenów pasożyta, w zależności od czasu zarażenia (tab., ryc.).

W badaniach 1 i 2 nie stwierdzono bazofilii, a jedynie nieznaczne obniżenie liczby tych granulocytów. Jest to zapewne związane z częściowym niszczeniem tego źródła granul mediatorowych, przy prawdopodobnie dość gwałtownie zachodzącej reakcji wyzwalania histaminy, szczególnie we wczesnej fazie po zarażeniu (badanie 1).

W atopowych reakcjach alergicznych typu bezpośredniego u ludzi z astmą oskrzelową niejednokrotnie stwierdzano spadek liczby bazofilów, szczególnie w ataku [6, 9, 19]. Występuje wówczas wzrost poziomu histaminy pełnej krwi, stymulowany wzmożoną proliferacją i równoczesną degranulacją połączoną z częściowym niszczeniem bazofilów krwi obwodowej [6, 19].

Jak z naszych obserwacji wynika, wraz z obniżeniem liczby bazofilów spada poziom histaminy bazofilów niezdegranulowanych. Jest znamienne, że poziom histaminy w komórce bazofilowej w niniejszym doświadczeniu nie ulegał zmianie (0,3 pg na komórkę), choć wyniki badań Rotha i wsp. [33] sugerują, że poziom ten może obniżać się w toku inwazji pasożyta. Krew zawiera pewien stały, niewielki zapas histaminy [11, 24, 32] pochodzący głównie z bazofilów. Parwaresch [31] wykazał, że bazofile mogą być szybko mobilizowane we krwi obwodowej, poza tym nie tylko one są źródłem histaminy w układzie krążenia. Stwierdzono, że w szoku anafilaktycznym również wyzwalanie histaminy z mastocytów tkankowych może być główną przyczyną zapaści [1]. Szybkość namnażania bazofilów w szpiku kostnym jest regulowana przede wszystkim utrzymaniem ich fizjologicznego poziomu w układzie krążenia wobec krótkiego okresu życia tych komórek [1]. Ponadto stwierdzono również zależność między liczbą bazofilów krwi a mastocytami tkankowymi: gatunki z wyższą ilością bazofilów (jaszczurki, ptaki, króliki) mają równocześnie niższy poziom mastocytów i odwrotnie (szczury, myszy, koty i psy) [1].

Wyniki, jakie uzyskano w badaniu 3 (tab., ryc.), wydają się być odbiciem przystosowania żywiciela do pasożyta, gdyż następuje zbliżenie się liczby bazofilów i poziomu histaminy bazofilów krwi obwodowej do wartości kontrolnych.

W pracy Katiyar i wsp. [18] o wpływie inwazji *H. nana* na poziom histaminy w tkance przewodu pokarmowego u szczurów wykazano niewielki wzrost poziomu histaminy przy zarażeniu cysticerkoidami w po-

równaniu z kontrolą, natomiast stwierdzono wysoki poziom histaminy w tkance jelitowej przy zarażeniu jajami tego pasożyta, wzrastający w miarę dojrzewania osobników. Zjawisko to mogłoby być wywołane bądź urazem mechanicznym z powodu rozwoju pasożytów w tkance żywiciela lub też być konieczne do usuwania dojrzałych robaków z jelita. Badacze doszli do wniosku, że „poziom histaminy wzrasta jako rezultat interakcji pasożyt-żywiciel i jest ona zlokalizowana w miejscu przebywania robaków bez zwiększania wrażliwości zarażonych zwierząt na histaminę”.

W cyklu rozwojowym *H. diminuta* w żywicielu ostatecznym, u szczura występuje zarażenie cysticerkoidami. Szczur zatem w tym przypadku nie jest modelem, w którym przebiega pełny cykl rozwojowy, niemniej wydaje się być właśnie interesujący fakt, że i tu interakcja pasożyt-żywiciel, wyrażona poziomem mediatora i liczbą komórek będących jego źródłem, wystąpiła bardzo wyraźnie.

Wnioski

1. Stwierdzono reakcję żywiciela specyficznego — szczura, wyrażoną spadkiem poziomu histaminy bazofilów krwi i liczbą bazofilów — na zarażenie cysticerkoidami *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819).
2. Spadek liczby bazofilów i poziomu histaminy bazofilów krwi nie jest zależny od liczby podanych cysticerkoidów.
3. Wyrazem przystosowania żywiciela do pasożyta jest fakt, że po ponad miesięcznym okresie od zarażenia, obecności dojrzałych tasiemców u żywiciela towarzyszył powrót liczby bazofilów i poziomu histaminy bazofilów do wartości kontrolnych.

Otrzymano: 9 III 1983

Adres autorów:

50-360 Wrocław, Mikulicza-Radeckiego 9

LITERATURA

1. Beaven, M. A.: Histamine: Its role in physiological and pathological processes. Monographs in allergy. — Vol. 13, Bethesda, 1978 r.
2. Beaven, M. A., Horakova, Z., Severs, W. B., Brodie, B. B.: Selective labeling of histamine in rat gastric mucosa: application to measurement of turnover rate. — *J. Pharmac. exp. Ther.*, 161, 320-328, 1968.
3. Berg, T., Johansson, S. G. O.: IgE concentrations in children with atopic diseases, a clinical study. — *Int. Arch. Allergy*, 36, 219-232, 1969.
4. Bunce, K. T., Parsons, M. E.: A quantitative study of metiamide, a histamine H_2 -antagonist, on the isolated whole rat stomach. — *J. Physiol.*, Lond., 258, 453-465, 1976.

5. Caren, J. F., Aures, D., Johnson, L. R.: Effect of secretion and cholecystokinin on histidine decarboxylase activity in the rat stomach. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 111, 1194-1197, 1969.
6. Charles, T. J., Williams, S. J., Seaton, A., Bruce, Ch., Taylor, W. H.: Histamine, basophils and eosinophils in severe asthma. — *Clinical Science*, 57, 39-45, 1979.
7. Cochrane, D., Douglas, W.: Calcium induced extrusion of secretory granules (exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or the ionophores A 23187 and X-537 A. — *Proc. Natn. Acad. Sci. USA*, 71, 408-412, 1974.
8. Diamant, B., Patkar, S. A.: Stimulation and inhibition of histamine release from isolated rat mast cells. Dual effects of ionophore A 23187. — *Int. Archs. Allergy appl. Immun.*, 49, 183-207, 1975.
9. Fal, W., Brańska, B., Latoś, T., Galary, E.: Zachowanie się poziomu histaminy bazofilów krwi u dzieci z astmą oskrzelową leczonych Polinekssem. — *Pediatrics Polska* — w druku.
10. Gell, P. G. H., Coombs, R. R. A.: Clinical aspect of immunology. — 575, Blackwell, Oxford — Edynburg, 1968.
11. Graham, N., Lowry, O., Wheelwright, F., Lenz, M., Parish, H.: Distribution of histamine among leukocytes and platelets. — *Blood*, 10, 467-481, 1955.
12. Häkanson, R.: Histidine decarboxylase in the bone marrow of the rat. — *Experientia*, 20, 205-206, 1964.
13. Isersky, C., Mendoza, G. R., Metzger, H.: The binding of antibodies to the solubilized and membrane — integrated mouse and rat receptor for IgE. — *J. Immun.*, 119, 123-130, 1977.
14. Ishizaka, T., Ishizaka, K., Orange, R., Austen, K.: The capacity of human immunoglobulin E to mediate the release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis (SRS_A) from monkey lung. — *J. Immun.*, 104, 335-343, 1970.
15. Ishizaka, T., Soto, C., Ishizaka, K.: Mechanisms of passive sensitization. III. Number of IgE molecules and their receptor sites on human basophil granulocytes. — *J. Immun.*, 111, 500-511, 1973.
16. Johnson, A. R., Moran, N. C., Mayer, S. E.: Cyclic AMP content and histamine release in rat mast cells. — *J. Immun.*, 112, 511-519, 1974.
17. Kahlson, G., Rosengren, E., Westling, H., White, T.: The site of increased formation of histamine in the pregnant rat. — *J. Physiol., Lond.*, 144, 337-348, 1958.
18. Katiyar, J. C., Suman, Gupta, Sen, A. B.: Histamine in relation to *Hymenolepis nana* infection in rats. — *Ind. Jour. Exp. Biol.*, 18, 1288-1290, 1980.
19. Kimura, J., Moritani, Y., Tanizaki, T.: Basophils in bronchial asthma with reference to reagin-type allergy. — *Clinical Allergy*, 3, 195-201, 1973.
20. Kraeuter, S. L., Schwartz, R.: Blood and mast cell histamine levels in magnesium-deficient rats. — *Jour. Nutrition*, 110, 851-858, 1980.
21. Kusner, E. J., Dubnick, B., Herzig, D. J.: The inhibition by disodium histamine release from rat peritoneal mast cells. — *J. Pharmac. exp. Ther.*, 184, 41-46, 1973.
22. Lagunoff, D.: The mechanism of histamine release from mast cells. — *Biochem. pharmacol.*, 21, 1889-1896, 1972.
23. Levine, R. J., Sate, T. L., Sjoerdsma, A.: Inhibition of histamine synthesis in the rat by alfa-hydrazino analog of histidine and 4-bromo-3-hydro-

- xybenzyloxyamine. — *Biochem. Pharmacol.*, 14, 139-149, 1965.
24. Lichtenstein, L. M., Bernardo de R.: IgE mediated histamine release in vitro separation into two phases. — *Int. Arch. Allergy*, 41, 56-71, 1971.
 25. Mackay, D., Marshall, P. B., Riley, J. F.: Histidine decarboxylase activity in a malignant rat hepatoma. — *J. Physiol.*, Lond., 153, 31, 1960.
 26. Martres, M. P., Baudry, M., Schwartz, J. C.: Histamine synthesis in the developing rat brain: evidence for a multiple compartmentation. — *Brain Res.*, 83, 261-275, 1975.
 27. Mendoza, G. R., Metzger, H.: Disparity of IgE binding between normal and tumor mouse mast-cells. — *J. Immun.*, 117, 1573-1578, 1976.
 28. Mendoza, G., Metzger, H.: Distribution and valency of receptor for IgE on rodent mast cells and related tumor cells. — *Nature*, Lond., 264, 548-550, 1976.
 29. Norman, P. S.: A review of immunotherapy. — *Allergy*, 33, 62-70, 1978.
 30. Orr, T. S. G., Pollard, M. C., William, G. J., Cox, J. S.: Mode of action of disodium cromoglycate, studies on immediate hypersensitivity reactions using double sensitization with two antigenically distinct rat reagents. — *Clin. exp. Immunol.*, 7, 745-757, 1970.
 31. Parwaresch, M. R.: The human blood basophil. — Springer, Berlin, 1976.
 32. Porter, J. R., Mitchell, R. G.: Distribution of histamine in human blood. — *Physiol. Rev.*, 52, 361-381, 1972.
 33. Roth, R. L., Levy, D. A.: *Nippostrongylus brasiliensis*: Peripheral leukocyte responses and correlation of basophils with blood histamine concentration during infection in rats. — *Expl. Parasit.*, 50, 331-341, 1980.
 34. Rotschild, A. M., Schayer, R. W.: Characterization of histidine decarboxylase from rat peritoneal fluid mast cells. — *Biochem. biophys. Acta*, 34, 392-398, 1959.
 35. Schayer, R. W.: Formation and binding of histamine by free mast-cells of rat peritoneal fluid. — *Am. J. Physiol.*, 186, 199-202, 1956.
 36. Schwartz, J. C., Romberg, A. L., Cohen, Y., Valette, G.: The effect of atropine on histidine decarboxylase of the stomach of the rat. — *Pharmacol. Res. Commun.*, 1, 89-93, 1969.
 37. Schlessiger, J., Webb, W. W., Elson, E. L., Metzger, H.: Lateral motion and valence of F_c receptors on rat peritoneal mast cells. — *Nature*, Lond., 264, 550-552, 1976.
 38. Shakir, K. M. M., Margilis, S., Baylin, S. B.: Localisation of histaminase (diamine oxidase) in rat small intestinal mucosa: site of release by heparin. — *Biochem. Pharmacol.*, 26, 2343-2347, 1977.
 39. Sielużycki, C.: Alergologia dla otolaryngologów. — PZWL, Warszawa, 1979.
 40. Siraganin, R., Siraganin, P.: Mechanism of action of concanavalin A on human basophils. — *J. Immun.*, 114, 886-893, 1974.
 41. Snyder, S. H., Brown, B., Kuhar, M. J.: The subsynaptosomal localization of histamine, histidine decarboxylase and histamine methyltransferase in rat hypothalamus. — *J. Neurochem.*, 23, 37-45, 1974.
 42. Stahl Skov, P., Norn, S.: A simplified method for measuring basophil histamine release and blocking antibodies in hay fever patients. Basophil histamine content and cell preservation. — *Acta Allergol.*, 32, 170-182, 1977.
 43. Taurog, J. D., Mendoza, G. R., Hook, A. W., Siraganin, R. P., Metzger, H.: Noncytotoxic IgE — mediated release of histamine and serotonin from murine mastocytoma cells. — *J. Immun.*, 119, 1757-1761, 1977.

44. Thunberg, R.: Localization of cells containing and forming histamine in the gastric mucosa of the rat. — *Expl. Cell Res.*, 47, 108-115, 1967.
45. Truneh, A., Pearce, F. L.: Characteristics of calcium requirements for histamine release from rat peritoneal mast cells treated with concanavalin A. — *Inter. Archs. Allergy appl. Immun.*, 66, 68-75, 1981.
46. Uvnäs, B.: The molecular basis for the storage and release of histamine in rat mast cell granules. — *Life Sci.*, 14, 2355-2366, 1974.

HISTAMINE OF PERIPHERAL BLOOD BASOPHILS IN EXPERIMENTAL HYMENOLEPIDOSIS OF RATS

by

W. FAL, B. BRAŃSKA, H. CZAPLICKA and E. GALARY

The histamine level of blood basophils and the number of basophils were studied in rats infected with various doses of *Hymenolepis diminuta* cysticercoids. The number of cysticercoids administered was found to affect but insignificantly the histamine level and the number of basophils. The antigen-antibody reaction is determined by the mere presence of parasite antigens. On the 4th day of infection a 38% reduction in the histamine level of basophils and 35,5% decrease of basophils could be demonstrated, as compared with the controls. This is related to a fairly rapid disintegration of basophils as a source of mediator granules. Eleven days later the corresponding values were less different from the controls. After 39 days the overall increase in the histamine level of basophils and the number of basophils were occasionally higher than those of the controls, this being an expression of host-parasite adaptation process.