WIADOMOŚCI PARAZYTOLOGICZNE
T. XXXIII, NR 4-5: 1987

HISTAMINA BAZOFILÓW KRWI I PEŁNEJ KRWI W PRZEBIEGU TRICHINELLOZY DOŚWIADCZALNEJ U SZCZURÓW

WŁODZIMIERZ FAL i EWA GALARY

Katedra i Zakład Biologii Ogólnej AM, Wrocław

Zgodnie z badaniami Gella i Coombsa [9], pasożyty w organizmie żywiciela mają charakter alergenów i wywołują odczyn bezpośredni o charakterze anafilaktycznym. Spośród wielu mediatorów reakcji anafilaktycznej udział histaminy jest podstawowy [38]. Na uwolnienie histaminy z ziarnistości komórek tucznych i bazofilów ma wpływ wiele czynników chemicznych i fizycznych. Badania Ischizaka i in. [15] wykazały, że IgE, która ma bardzo wysokie powinowactwo do bazofilów poprzez reakcję antygen-przeciwciało powoduje ich degranulację. Próbę wyjaśnienia degranulacji bazofilów dał m. in. Lagunoff [24], a czteroetapowy proces doświadczalnego uwalniania histaminy bazofilów za pośrednictwem surowicy anty-IgE opisany został przez Beavena [3]. Poziom IgE w surowicy i tkankach jest śladowy. Według badań Ischizaka i wsp. [14] oraz innych autorów [27, 28] w anafilaksji i atopii jest znacznie podwyższony. W reakcjach typu bezpośredniego wytwarzane są duże ilości reagin, które zostają związane na powierzchni komórek tucznych i bazofilów a przy kolejnym kontakcie z określonym antygenem dochodzi do reakcji antygen-przeciwciało. Badania nad rolą mastocytów i uwalnianych przez nie amin, a zwłaszcza histaminy w usuwaniu włośni dorosłych z przewodu pokarmowego w przebiegu trichinellozy u myszy przeprowadziła Karmańska i wsp. [18, 19] oraz Michalska i wsp. [33].

Mechanizmy obronne żywiciela w przebiegu włośnicy czynne są w obu jej fazach i mogą doprowadzić do usunięcia włośni dorosłych z jelita (tzw. zjawisko samowyleczenia „self-cure"), a w fazie mięśniowej przyczyniają się do wytworzenia ziarniaków. W ciągu wielu lat badań nad zjawiskiem samowyleczenia zmieniały się próby interpretacji przyczyn tego zjawiska. Duże znaczenie początkowo przypisywano komórkom tucznym i uwalnianym przez nie aminom [16, 18-21, 34, 39]. Z czasem główną rolę zaczęto przypisywać limfocytom i stanowi NTP [2, 25, 44]. Niektórzy badacze uważają, że bezpośrednią przyczyną „expulsion" są prostaglandyny [6, 7, 22], inni natomiast podkreślają dużą rolę fosfolipazy B [10, 37].

Wiele prac dotyczących metabolizmu histaminy i czynników regulujących jej poziom we krwi obwodowej oraz w tkankach wykonano na gryzoniach [3-5, 17, 26, 30, 40]. Stwierdzono, że z uwalnianiem histaminy łączy się wzrost eozynofili. Komórki te towarzyszą inwazjom pasożytniczym i działają jako fizjologiczne antyhistaminiki. Rolę eozynofili w reakcjach alergicznych badał Hubscher [11, 12]. Stwierdził on, że w wyniku reakcji tych komórek ze specyficznymi antygenami lub surowicą anty-IgE z eozynofili był uwalniany EDI-inhibitor uwalniania histaminy. Autor sugeruje, iż uwalnianie inhibitora może być wynikiem bezpośredniej interakcji tego alergenu lub surowicy anty-IgE z IgE, związanym z eozynofilami, a także że eozynofile uwalniając inhibitor przyjmują rolę modulującą w reakcjach alergicznych.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 150 szczurów, samców rasy Buffalo w wieku 3 miesiące, wolnych od pasożytów przewodu pokarmowego. Zwierzęta doświadczalne zarażano larwami mięśniowymi *T. spiralis* w ilości 2000 larw na szczura. Szczury podzielono na dwie grupy, pierwszą (80 osobników) stanowiły zwierzęta od których pobierano krew na oznaczanie histaminy bazofilów i na liczenie komórek bazofilowych, a drugą (50 osobników) zwierzęta od których pobierano krew na oznaczanie histaminy w pełnej krwi. Osobną grupą kontrolną było 20 nie zarażonych zwierząt tej samej rasy i wieku.

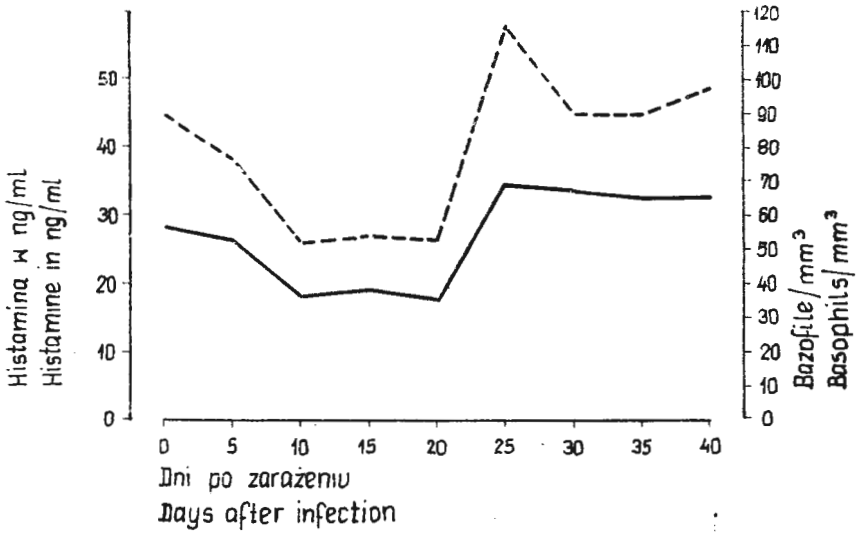
Pomiarów poziomu histaminy bazofilów krwi obwodowej oraz liczenia komórek bazofilowych dokonywano co 5 dni licząc od dnia zarażenia do 40 dnia po zarażeniu, natomiast histaminę w pełnej krwi oznaczano w 5, 10, 20, 30 i 40 dniu od zarażenia. U 10 szczurów grupy kontrolnej oznaczano histaminę bazofilów i u 10 histaminę w pełnej krwi.

Krew pobierano przez dekapitację zwierząt. Oznaczanie poziomu histaminy w bazofilach wykonano wg metody Lichtensteina [27] w modyfikacji Stahl Skov [42], na spektrofotofluorymetrze Perkin-Elmer MPF, przy spektrum 355/455. Histaminę w pełnej krwi oznaczano wg metody Lorentza i wsp. [29]. Pomiarów dokonywano na spektrofotofluorymetrze Perkin-Elmer MPF, przy spektrum 360/450.

Wyniki i omówienie

Poziom histaminy bazofilów krwi obwodowej u szczurów kontrolnych wynosił średnio 28,6 ± 1,4 ng/ml krwi, a liczba bazofilów 90/mm^3 krwi (85-92).

W grupie I, w piątym dniu po zarażeniu (p.z.), w początkowym okre-



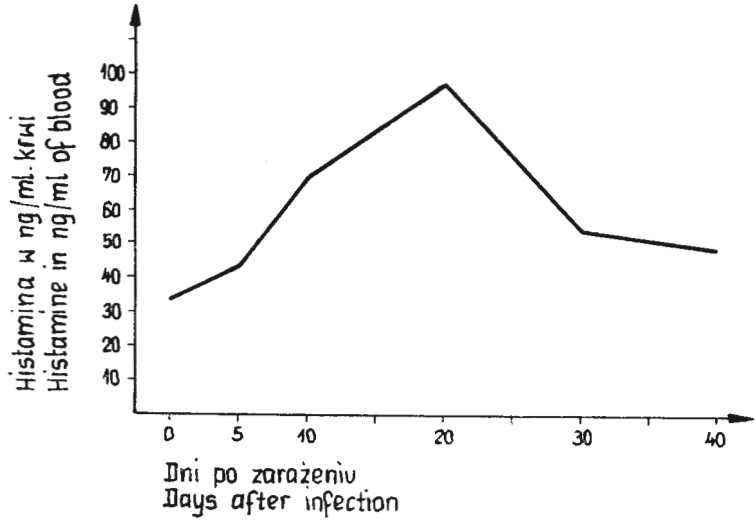
Ryc. 1. Histamina bazofilów krwi obwodowej w ng/ml krwi i liczba bazofilów w mm³ krwi; ——— histamina, bazofile

Fig. 1. Basophil histamine level in ng/ml of blood and number of the basophils in mm³ of the blood; ——— histamine, basophils

sie dojrzewania, kopulacji i rodzenia młodych larw wnikających do układu krwionośnego, stwierdzono nieznaczny spadek histaminy bazofilów krwi obwodowej w porównaniu do wyników kontrolnych (ryc. 1) a liczba bazofilów kształtowała się średnio na poziomie 77/mm³ krwi (74-79).

W dziesiątym dniu p.z., kiedy młode larwy pojawiają się w mięśniach, wykazano dość znaczny spadek histaminy bazofilów krwi, średnio do 18,1 ng/ml krwi, a liczba bazofilów spadła do 52/mm³ krwi (49-55). W 15 dniu p.z. poziom histaminy bazofilów krwi obowodowej wynosi średnio 18,9 ng/ml, a w 20 dniu 17,6 ng/ml krwi. Liczba komórek bazofilowych wynosiła odpowiednio 54/mm³ w 15 dniu i 53/mm³ krwi w 20 dniu. W 25 dniu inwazji stwierdzono najwyższy przyrost poziomu histaminy bazofilów krwi obwodowej. W porównaniu z grupą kontrolną wynosił on średnio 34,6 ng/ml, a liczba bazofilów wynosiła średnio 116/mm³ (110-121). W 30 i 35 dniu p.z. wystąpił nieznaczny spadek histaminy bazofilów w stosunku do tego jaki notowano w 25 dniu p.z.. Jednakże był on stale wyższy od wartości kontrolnych (ryc. 1). Liczba bazofilów w 30 i 35 dniu inwazji wynosiła 95 komórek w 1 mm³ krwi (88-100). W 40 dniu p.z. utrzymywał się taki poziom histaminy bazofilów jak w 35 dniu (ryc. 1); także liczba bazofilów nie uległa większym zmianom i wynosiła średnio 98/mm³ krwi (94-103).

W II grupie szczurów zarażonych, poziom histaminy pełnej krwi w 5 dniu p.z. wzrósł znamiennie i wynosił średnio 43,2 ng/ml krwi (ryc. 2).



Ryc. 2. Histamina pełnej krwi u szczurów zarażonych *T. spiralis*
Fig. 2. Histamine in whole blood in rats infected with *T. spiralis*

Dalszy wzrost poziomu histaminy pełnej krwi obserwowano w 10 dniu (69,9 ng/ml). Najwyższy w stosunku do kontroli poziom histaminy wystąpił w 20 dniu p.z. osiągając 97,7 ng/ml. W 30 dniu stwierdzono istotny spadek histaminy pełnej krwi do 54,1 ng/ml, a w 40 dniu poziom tej aminy wynosił 48,9 ng/ml i był ciągle wyższy od wartości kontrolnych.

Z przedstawionych obserwacji wynika, że w zarażeniu włośniami istnieją zależności między liczbą bazofilów a stadium inwazji pasożytów w żywicielu, oraz liczbą bazofilów a poziomem histaminy. Zaobserwowano również, iż poziom histaminy w komórce bazofilowej nie ulega zmianie w czasie inwazji. Źródłem histaminy pełnej krwi są zapewne bazofile, jak również mastocyty tkankowe, z których jest ona uwalniana po zniszczeniu tych komórek w reakcji antygen-przeciwciało. Przemawiają za tym również badania Kraeuter i wsp. [23] nad wpływem niedoboru magnezu na poziom histaminy krwi i mastocytów u szczura, które wykazały korelację poziomu histaminy pełnej krwi z liczbą zdegranulowanych mastocytów przewodu pokarmowego, z podkreśleniem wpływu tego niedoboru na proliferację mastocytów. Podczas szoku anafilaktycznego mastocyty innych tkanek mogą być także źródłami histaminy stwierdzanej w krążącej krwi, przyczyniającej się do powstania zawału. Na udział mastocytów tkankowych (najprawdopodobniej zlokalizowanych w błonie śluzowej jelita) we wzroście poziomu histaminy pełnej krwi, wskazują wyniki uzyskane w niniejszej pracy. Wyraża to poziom histaminy bazofilów krwi obwodowej u szczurów kontrolnych stanowiący

85,4% poziomu histaminy pełnej krwi. Histamina bazofilów w 20 dniu p.z. wynosiła 18% poziomu histaminy pełnej krwi. Zdaje się to przemawiać za tym, iż histamina we krwi, poza bazofilami, pochodzi także z innych źródeł. Wzrost poziomu histaminy pełnej krwi mogą powodować nie tylko choroby pasożytnicze. Nowik-Jurek i wsp. [35] badali jej poziom u szczurów poddanych działaniu wysokiej temperatury tzn. oparzeniom. Aksenova [1] przeprowadziła badania poziomu histaminy pełnej krwi u szczurów poddanych wagotomii. W obu tych przypadkach stwierdzono wzrost histaminy pełnej krwi równie wysoki jak wywołany zarażeniem larwami *T. spiralis*.

W przedstawionych badaniach (ryc. 1) wykazano równoległość zmian liczby bazofilów i poziomu histaminy bazofilów w toku inwazji. W porównaniu do wartości kontrolnych zmiany te wykazują charakterystyczny przebieg. W ciągu 5-10 dni p.z. obserwuje się mianowicie spadek liczby bazofilów, trwający do 20 dnia inwazji w przeciwieństwie do mastocytów jelitowych, których liczba od początku zarażenia wyraźnie wzrasta [8, 16]. Początek inwazji jest okresem pierwszej interakcji żywiciel-pasożyt, zachodzącej w przestrzeniach chłonnych, układzie krążenia i tkankach jelita. Stwierdzony w niniejszej pracy spadek liczby bazofilów jest niewątpliwie wynikiem zmniejszenia się liczby całych komórek, niezdegranulowanych w reakcji antygen-przeciwciało. Być może w tym czasie przebiega proliferacja bazofilów, stymulowana immunologicznie, podobnie jak w przypadku mastocytów tkankowych [13, 31, 32, 41, 43]. Według Ogilvie [36] namnażanie bazofilów u szczurów zarażonych nicieniem *Nippostrongylus brasiliensis*, następuje pod wpływem obecności antygenu.

Z obserwacji własnych wynika, że poziom histaminy bazofilów spada równolegle do liczby komórek jeszcze niezdegranulowanych. Spadek ten jest w przybliżeniu odwrotnie proporcjonalny do wzrostu poziomu histaminy pełnej krwi. Jak wiadomo po 20 dniu od zarażenia (ryc. 1, 2) stwierdzono znaczny wzrost poziomu histaminy bazofilów krwi obwodowej i równoczesny spadek histaminy pełnej krwi. W oparciu o wyniki otrzymane po 20 dniu od zarażenia należy przypuszczać, że w tym czasie rozpoczyna się okres względnej stabilizacji układu żywiciel-pasożyt, co ma swój wyraz w zakończonej eliminacji pasożytów ze światła jelita, natomiast w relacji bazofil-histamina żywiciela, wyraża się wzrostem liczby niezdegranulowanych bazofilów z równoczesnym spadkiem poziomu histaminy pełnej krwi.

Otrzymano: 27 X 1986

Adres autorów:
50-360 Wrocław, Mikulicza-Radeckiego 9

LITERATURA

1. Aksenova, V. M.: Histamine and serotonin content in immunocompetent tissues and blood in vagotomized rats. — *Patol. Fizjol. Eksp. Ter.*, 1, 23-26, 1981.
2. Askenaze, P. W.: Immune inflammatory responses to parasites: the role of basophils, mast cells and vasoactive amines. — *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 16, 96-103, 1977.
3. Beaven, M. A.: Histamine: Its role in physiological and pathological processes. Monographs in allergy. — Vol. 13, Bethesda, 1978.
4. Caren, J. F., Aures, D., Johnson, L. R.: Effect of secretion and cholecystokinin on histidine dekarboxylase activity in the rat stomach. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 111, 1194-1197, 1969.
5. Diamant, B., Patkar, S. A.: Stimulation and inhibition of histamine release isolated rat mast cells. Dual effects of ionophore A 23187. — *Int. Archs. Allergy appl. Immun.*, 49, 183-207, 1975.
6. Dineen, J. K., Kelly, J. D., Goodrich, B., S., Smith, I. D.: Expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* from the small intestie of the rat by prostaglandin — like factors from ram semen. — *Int. Archs. Allergy appl. Immun.*, 46, 360-374, 1974.
7. Dineen, J. K., Kelly, J. D.: Levels of prostaglandins in the small intestine of rats during primary and secondary infection with *Nippostrongylus brasiliensis*. — *Int. Arch. Allergy appl. Immun.*, 51, 429-440, 1976.
8. Fal, W.: Zachowanie się mastocytów, histaminy, serotoniny i kinin osoczowych w przebiegu włośnicy doświadczalnej. — Prace Naukowe A. M., IX, 2, 1975.
9. Gell, P. G. H., Coombs, R. R. A.: Clinical aspect of immunology. Blackwell, Oxford-Edynburg, 1968.
10. Goetzl, E. J., Austen, K. F.: Cellular characteristics of the eosinophil compatible with a dual role in host defense in parasitic infections. — *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 26, 142-150, 1977.
11. Hubscher, T.: Role of the eosinophil in the allergic reactions. I. EDI — An eosinophil-derived inhibitor of histamine release. — *J. Immunology*, 114, 1379-1388, 1975.
12. Hubscher, T.: Role of the eosinophil in the allergic reactions. II. Release of prostaglandins from human eosinophilic leucocytes. — *J. Immunology*, 114, 1389-1393, 1975.
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. P., Austen, K.: The capacity of human immunoglobulin E to mediate the release of histamine and slow reacting of anaphylaxis (SRS-A) from monkey lung. — *J. Immun.*, 104, 335-343, 1970.
15. Ishizaka, T., Soto, C. S., 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. Jarrett, W. F. H., Jarrett, E. E. E., Miller, H. R. P., Urguhart, G. M.: Quantitative studies on the mechanism of self-cure in *Nippostrongylus brasiliensis* infections. — *Vet. Med. Rev.*, 191-198, 1968.

17. 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.
18. Karmańska, K., Michalska, Z., Martynowicz, T.: Effect of histamine on experimental trichinellosis in mice. — *Wiad. Parazytol.*, 20, 7-19, 1974.
19. Karmańska, K., Michalska, Z.: Influence of the combined action of histamine and theophylline on mast cells, antibody-bearing cells and parasites in the course of experimental trichinellosis in mice. — *Wiad. Parazytol.*, 23, 745-755, 1977.
20. Karmańska, K., Michalska, Z.: Influence of theophylline on the course of experimental trichinellosis in mice. — *Acta parasit. pol.*, 26, 49-59, 1978.
21. Keller, R.: *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat: Failure to relate intestinal histamine and mast cell levels with worm expulsion. — *Parasitology*, 63, 473-481, 1971.
22. Kelly, J. D., Dineen, J. K., Goodrich, B., Smith, J.: Expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* from the intestine of rats: role of prostaglandins and pharmacologically-active amines (histamine, 5-hydroxytryptamine) in worm expulsion. — *Int. Archs. Allergy appl. Immun.*, 47, 458-465, 1974.
23. Kraeuter, S. L., Schwartz, R.: Blood and mast cell histamine levels in magnesium-deficient rats. — *J. Nutrition*, 110, 851-858, 1980.
24. Lagunoff, D.: The mechanism of histamine release from mast-cells. — *Biochem. Pharmacol.*, 21, 1889-1896, 1972.
25. Larsh, J. E., Race, G. J.: Allergic inflammation as a hypothesis for the expulsion of worms from tissues. — A review. *Expl Parasit.*, 37, 251-266, 1975.
26. Levine, R. J., Sato, T. L., Sjoerdsma, A.: Inhibition of histamine synthesis in the rat by L-hydrazino analog of histidine and 4-bromo-3-hydroxybenzyloxyamine. — *Biochem. Pharmacol.*, 14, 139-149, 1965.
27. Lichtenstein, L. M., Bernardo de R.: IgE mediated histamine release in vitro separation in two phases. — *Int. Arch. Allergy*, 41, 56-71, 1971.
28. Lichtenstein, L. M., Ishizaka, K., Norman, P. S., Sobotka, A. K., Hill, B. M.: IgE antibody measurements in ragweed hay fever: Relationship to clinical severity and the results of immunotherapy. — *J. Clin. Invest.*, 52, 472-482, 1973.
29. Lorentz, W., Reimann, H. J., Barth, H., Kusche, J., Mayer, R., Doenicke, A., Hutzel, H.: A sensitive and specific method for the determination of histamine in human whole blood and plasma. — *Z. Physiol. Chem.*, 353, 911-920, 1972.
30. 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.
31. Mendoza, G. R., Metzger, H.: Disparity of IgE binding between normal and tumor mouse mast-cells. — *J. Immun.*, 117, 1573-1578, 1976.
32. Mendoza, G. R., Metzger, H.: Distribution and valency of receptor for IgE rodent mast and related tumor cells. — *Nature*, Lond., 264, 548-550, 1976.
33. Michalska, Z., Karmańska, K.: Influence of inhibition of degranulation of mast cells by Intal (disodium cromoglycate) on the course of trichinellosis in mice. — *Acta parasit. pol.*, 24, 69-80, 1976.
34. Murray, M., Miller, H. R. P., Sandord, J., Jarrett, W. F. H.: 5-Hydroxytryptamine in intestinal immunological reactions. Its relationship to mast cell activity and worm expulsion in rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis*. — *Int. Arch. Allergy*, 40, 236-247, 1971.
35. Nowik-Jurek, M., Łańcucki, J.: Blood and skin histamine and sero-

tonin levels in rats following second degree burns. — *Pol. Tyg. Lek.*, 36, 631-635, 1981.
36. Ogilvie, B. M., Hesketh, P. M., Rose, M. E.: *Nippostrongylus brasiliensis*: peripheral blood leukocyte response of rats, with special reference to basophils. — *Expl. Parasit.*, 46, 20-30, 1978.
37. Ottolenghi, A., Kocan, A. A., Weatherly, N. F., Larsh, J. E.: *Nippostrongylus brasiliensis* phospholipase in nonsensitized and sensitized rats after challenge. — *Expl Parasit.*, 38, 96-104, 1975.
38. Romański, B.: Alergologia dla internistów. — PZWL, Warszawa, 1980.
39. Rothwell, T. L. W., Jones, W. O., Love, R. J.: Studies on the role of histamine and 5-hydroxytryptamine in immunity against the Nematode *Trichistrongylus colubriformis*. III. Inhibition of worm expulsion from guinea pigs by treatment with reserpine. — *Int. Arch. Allergy*, 47, 875-886, 1974.
40. Schayer, R. W.: Formation and binding of histamine by fee mast-cells of rat peritoneal fluid. — *Am. J. Physiol.*, 186, 199-202, 1956.
41. Schlessinger, J., Webb, W. W., Elson, E. L., Metzger, H.: Lateral motion and valence of Fc receptors on rat peritoneal mast cells. — *Nature*, Lond., 264, 550-552, 1976.
42. Stahl Skov, P., Norn, S.: A simplified method for measuring basophil histamine release and blocking antibodies in hay fewer patients. Basophil histamine content and cell preservation. — *Acta Allergol.*, 32, 170-182, 1977.
43. Taurog, J. D., Mendoza, G. R., Hook, W. A., Siraganian, R. P., Metzger, H.: Noncytotoxic IgE-mediated release of histamine and serotonin from murine mastocytoma cells. — *J. Immun.*, 119, 1757-1761, 1977.
44. Wakelin, D., Wilson, M. M.: T and B cells in the transfer of immunity against *Trichinella spiralis* in mice. — *Immunology*, 37, 103-109, 1979.

HISTAMINE OF BLOOD BASOPHILS AND OF WHOLE BLOOD IN RATS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *TRICHINELLA SPIRALIS*

by

W. FAL and E. GALARY

Basophil histamine of blood and whole blood was designated for two groups of rats infected with larvae of *T. spiralis*. The number of blood basophils is correlated with the histamine level of basophils and depends on the phase of invasion. Befor the 20th day post infection the level of basophil histamine decreases proportionally to the number of basophil cells, and the level of whole blood histamine increases. After the 20th day post infection a period of stabilisation of the host-parasite relation begins, i.e. the histamine level of blood basophils increases significantly, whereas the histamine level of whole blood decreases.