

УДК 576.311.336: 616. 523-000.6

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ГРАНУЛ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПРИ ВЫРАБОТКЕ СЕКРЕТА ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЕРПЕС-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Луценко М.Т.

*Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН,
Благовещенск, e-mail: Lucencomt@mail.ru*

Изучали динамику изменений морфофункционального состояния цитоплазматических гранул тучных клеток во время беременности в небной миндалине. Для исследования применяли электронно-микроскопический анализ и программу Biovision. Отмечено, что цитоплазматические гранулы тучных клеток построены упорядочено из белковой основы, ассоциированной с полисахаридным комплексом, с которым контактируют биогебноактивные вещества: гистамин, серотонин и другие. Под влиянием JgE гранулы освобождаются от гистамина, после чего кольцевидный план строения гранул дезинтегрируется и цитоплазматическая гранула разрушается, превращаясь в вакуоли.

Ключевые слова: тучные клетки, гранулы, герпесная инфекция

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTIC CYTOPLASMATIC GRANULES OF MAST CELLS AT TO DEVELOPMENT OF THE SECRET UNDER INFLUENCE HERPES-VIRUS INFECTION

Lutsenko M.T.

*Laboratory of the Mechanisms of Etiopathogenesis and Regenerative Processes of Respiratory Organs
in Non-specific Pulmonary Diseases, Far Eastern Center of Respiratory Physiology and Pathology,
RAMS SB, Blagoveschensk, e-mail: Lucencomt@mail.ru*

Studied dynamics, of changes morphofunctional, conditions cytoplasmatic granules of mast cells during pregnancy in palatine tonsil. To research applied the electronmicroscopical analysis and program Biovision. It is marked that cytoplasmatic granules of mast cells it constructed, ordered from an abbuminous basis associate with polysaccharides a complex to with coteact histamin serotonin and enzymes. Under influence JgE of a granules are released from histamine them annular the plan of structure of granules disintegration and cytoplasmatic granules collapses, turning in vacuoles.

Keywords: mast cells, cytoplasmate granules, herpes-virus infection

Тучные клетки обнаруживаются почти во всех органах и тканях. Они участвуют во многих физиологических реакциях, выделяя разнообразные биологически активные вещества [5, 11–16].

Тучные клетки реагируют на гипоксическую гипоксию выбросом биологически активных веществ, эффект действия которых зависит от ткани, в которой локализованы тучные клетки. Маркером тучной клетки является гистамин [1, 4, 7, 8].

Однако они могут выделять и большое количество медиаторов, среди которых могут быть лейкотриены С₄, Д₄, Е₄, простогландин Д, гепарин, триптаза [5]. Тучными клетками выделяется коллагеназа, что приводит к повреждению соединительной ткани, особенно в легких [10]. Выделяемый тучными клетками гистамин в легких повышает капиллярную проницаемость, повреждает капиллярную стенку и усиливает деполимеризацию основного вещества соединительной ткани, что сказывается на газотранспортной функции аэрогематического барьера [11, 12].

Гистамин модулирует активность многих клеток, принимающих участие в им-

мунном воспалении, и оказывает влияние на клеточные иммунные реакции [10, 13].

Цель исследования – проанализировать морфологические изменения, происходящие в гранулах тучных клеток соединительной ткани липидами у беременных при обострении во время герпес-вирусной инфекции.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились на биопсийном материале небных миндалин 20 беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции. Контролем была группа из 15 здоровых беременных на базе акушерского отделения клиники Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания СО РАМН. Все исследования были проведены с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Министерства РФ от 19.06.2003 г., № 266.

Биопсийный материал фиксировался в 2% параформальдегиде на какодилатном буфере рН 7,4. Заливка осуществлялась в аралдит-эпоне. Срезы изготавливались на микротоме LKB-8800 (Швеция) и рассматривались под электронным микроскопом, обработанным компьютерной системой анализа.

Электроннограммы анализировались с помощью программного обеспечения Biovision. Компьютер AMD IBM PS (USA) сопряжен с камерой «Pixer» – модель PVC 100c (USA), позволяющая работать по программе Biovision (Version 2, West Medica GMBH, Austria).

Выбранные кадры калибровались по размерам 10 см×300 пикселей/дюйм и вводились в программу сканирования (Biovision). После этого производили калибровку по ранжированию объекта. В настоящем исследовании взят в расчет ранж (фаза плотности) – 60 пикселей. Титр антител к вирусу герпеса и JgE определяли иммуноферментным методом на спектрофотометре «Stat-Fax-2100» (USA).

Результаты исследования и их обсуждение

Тучные клетки отличаются значительным полиморфизмом. Их форма может быть овоидной, веретеновидной, а иногда даже отростчатой. Плоскую форму чаще приобретают тучные клетки, располагающиеся по ходу кровеносных сосудов [1, 4]. В цитоплазме тучных клеток содержится большое количество цитоплазматических гранул довольно крупных размеров. Электронно-микроскопические исследования тучных клеток указывают на полиморфизм их гранулярного аппарата. По наблюдениям ряда авторов [9, 14] тучные клетки содержат темные, гомогенного характера гранулы и одновременно более 60% гранул имеют зернистый характер. Вероятно, это связано с процессом дегрануляции тучных клеток, в ходе которого цитоплазматические гранулы приобретают поэтапное изменение своей структуры [9]. Основу гранул тучной клетки с химических позиций составляет полисахаридно-белковый комплекс (гепарин-белок), на который приходится 65% общего

веса гранул. Ассоциация между гепарином и белком очень прочная. Сульфатные группы гепарина взаимодействуют с аминокруппами аргинина – основного белка цитоплазматических гранул [7, 9]. Гистамин связан с белковой группой менее прочно. Связь белка с гепарином остается прочной даже после трехкратного замораживания-оттаивания. Вероятно, это обусловлено прочной ковалентной связью гепарина с белком [7]. Учитывая прочную связь гепарина с белком можно объяснить подавление протеолитической активности со стороны химазы, которая до определенного времени остается в качестве структурного белка. Таким образом, гепарин выступает в роли ингибитора протеолитической активности и предохраняет цитоплазматические гранулы от аутолитического расщепления. Слабо ассоциированным компонентом в этой системе остается гистамин. Он может вытесняться из комплекса при воздействии веществ, обладающих большим сродством к гепарину.

Однако в связи с бурным развитием иммунологии было установлено, что тучные клетки имеют на своей поверхности специфические рецепторы для связи с JgE. На тучной клетке фиксируются комплексы JgE-антитела, которые сохраняются длительный срок – до 28 дней. Длительное пребывание на поверхности тучной клетки комплексы JgE-антитела стимулирует внутриклеточный секреторный процесс, проявляющийся, прежде всего, в секреции из клетки гистамина [5, 7].

Нами установлено, что при обострении герпес-вирусной инфекции, по мере нарастания титра антител к вирусу герпеса, количество JgE в периферической крови нарастает (таблица).

Активность JgE в крови беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции

Титр антител к вирусу герпеса				
JgE мe/мл	1:3200	1: 6400	1:12 800	Контроль
	128,0 ± 0,3 <i>p</i> < 0,001	191,0 ± 0,5 <i>p</i> < 0,001	382,0 ± 0,8 <i>p</i> < 0,001	48,1 ± 0,9

Реакция антигена с фиксированными на тучных клетках JgE-антителами вызывает активизацию клетки, в результате чего и развивается дегрануляция. После прекращения действия стимулирующего фактора выход секрета в экстрацеллюлярное пространство прекращается, клетка возвращается в состояние покоя [5]. Таким образом, процесс дегрануляции при этом представляет не патоморфологическую реакцию, а одну из важных форм клеточного ответа на возникающий стимул, в данном случае на JgE.

Несмотря на обширную литературу, описывающую важную роль тучных клеток в метаболизме тканевых систем организма, имеется мало сведений, раскрывающих механизм формирования секреторной активности и характер морфологических изменений гранулярного аппарата при этом процессе.

Нами предприняты исследования, направленные на изучение строения гранул тучных клеток. Используя метод компьютерного анализа, раскрывающего по плотности физико-химические структуры, мож-

но определить динамику формирования гранул и их освобождение от содержимого в окружающую среду.

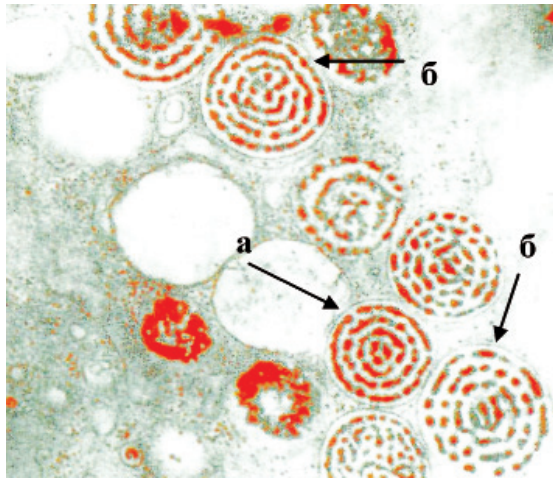


Рис. 1. Тучная клетка в соединительной ткани нёбной миндалины. Беременная перенесла вспышку герпес-вирусной инфекции с титром антител к вирусу герпеса 1:3200. Отчетливо видна активизация гранул. Нормальный план строения (а). Дезинтеграция волокнистых структур – нарушен кольцевой план расположения цитоплазматических гранул (б). Электронная микроскопия. Увеличение – 40000. Ранж – 60 пикселей

При нарастании титра антител к вирусу герпеса отмечается повышение содержания в периферической крови JgE (см. таблицу), который неминуемо вступает в контакт с рецепторами мембран тучных клеток. Контакт JgE с тучными клетками порождает цепь физико-химических реакций, в основе которых в первую очередь должна активизироваться протеолитическая реакция в гранулах. Гранулы тучных клеток в состоянии покоя имеют строго упорядоченную структуру.

Белково-полисахаридные волокна в норме тесно связаны с гепарином, гистамином, серотонином и другими компонентами цитоплазматической гранулы, располагаясь концентрическими слоями (рис. 2) и имея боковые связи, удерживающие их в строго упорядоченном положении. Контакт клетки с JgE вызывает цепь реакций, вероятно в первую очередь протеолитической активности, что приводит к дезинтеграции упорядоченного кольцевидного расположения волокон и нарушает их связь друг с другом (рис. 3, 4). В этот момент наиболее слабо ассоциированный с белково-гепариновой структурой гистамин высвобождается и уходит за пределы гранулы. Таким же путем гранулы могут выделять серотонин и ферменты.

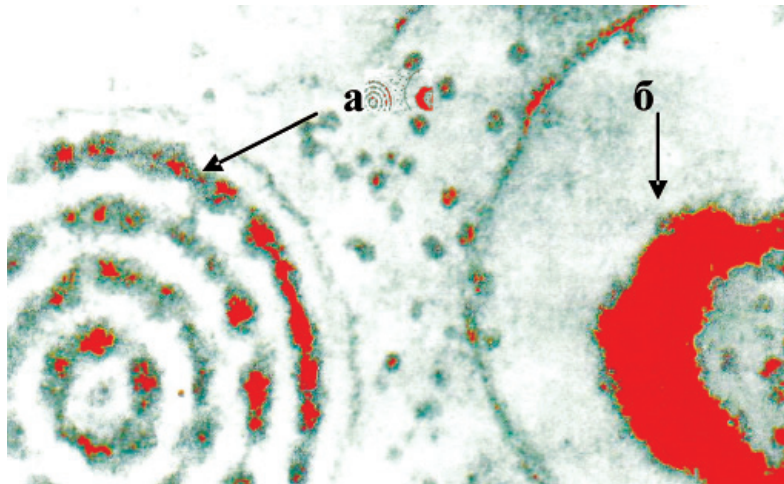


Рис. 2. Тучная клетка в соединительной ткани нёбной миндалины. Беременная перенесла обострение герпес-вирусной инфекции (титр антител – 1:6400). Крупным планом представлено строение цитоплазматических гранул. Между волокнами – мостики, связывающие их в пределах кольца (а). Гранула выполнила секреторную активность и превратилась в аморфный комок. В центре сохраняются единичные волокна (б). Электронная микроскопия. Увеличение – 80000. Ранж – 60 пикселей

В работающей тучной клетке при электронно-микроскопическом исследовании с применением программы Biovision можно увидеть, что после освобождения цитоплазматических гранул от активных веществ, белково-полисахаридная основа дезорга-

низуются, принимая форму либо комочков (см. рис. 2), либо кольцевидных образований (рис. 1, 5). Последние либо разрушаются протеолитическими ферментами, либо покидают пределы тучной клетки, оставляя вместо себя вакуолеобразные пустоты

(см. рис. 1, 5), что не наблюдается в покоящихся тучных клетках (рис. 6). Процесс дегрануляции зависит от агрессивности инфекции и количества IgE в крови беременной. При титре антител к вирусу герпеса 1:3200 тучная клетка содержит на 90% гранулы слабо активные (рис. 6), что наблюдается у беременных, не болевших на протяжении всего периода гестации. При

титре антител к вирусу герпеса 1:6400 и особенно при титре 1:12800, когда в организме беременной резко нарастает содержание IgE, в тучных клетках отмечается бурная реакция перестройки гранул, направленная на освобождение их содержимого и разрушение кольцевидной структуры волокон, вплоть до их полного уничтожения (см. рис. 5).

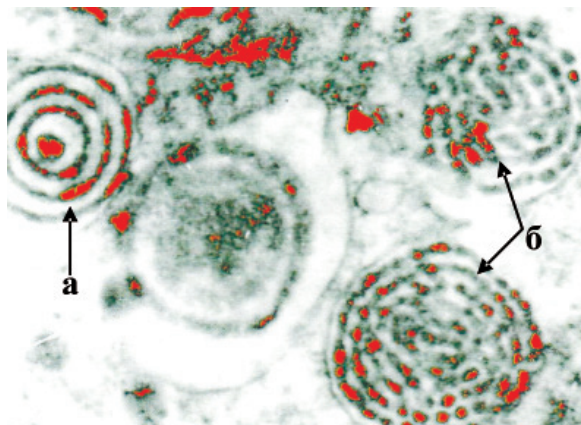


Рис. 3. Тучная клетка в соединительной ткани небной миндалины. Беременная перенесла вспышку герпес-вирусной инфекции (титр антител – 1:3200).

Гранулы на различной стадии активности. Нормальный план строения (а). Начальные этапы активизации (б). Электронная микроскопия. Увеличение – 60000. Ранж – 60 пикселей

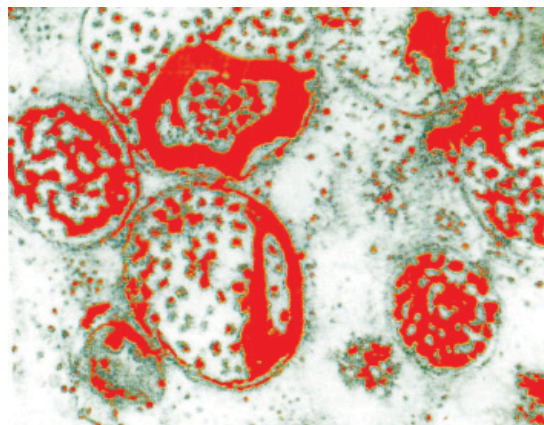


Рис. 4. Тучная клетка в соединительной ткани небной миндалины. Беременная перенесла обострение герпес-вирусной инфекции с титром антител 1:12800.

В поле зрения гранулы тучной клетки в состоянии высокой активизации. Увеличение × 60000. Ранж – 60 пикселей

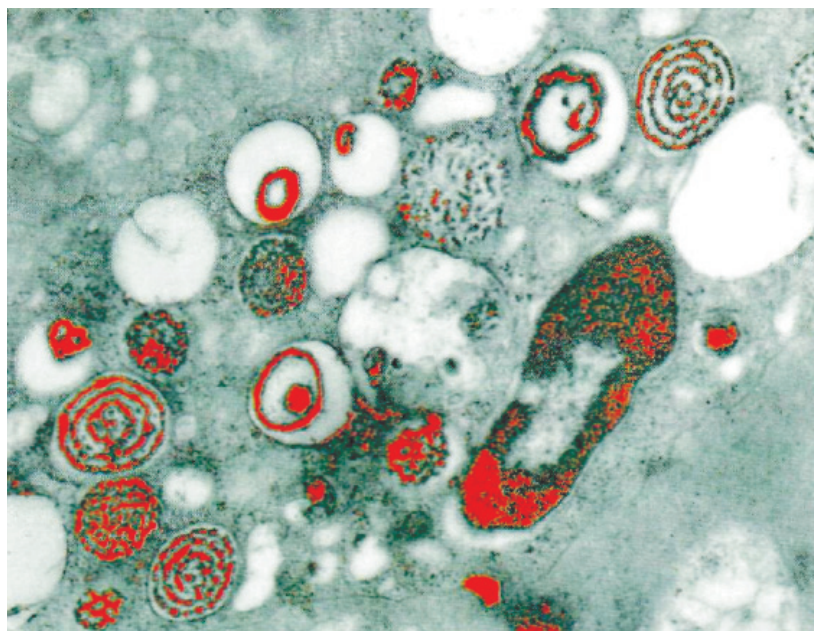


Рис. 5. Тучная клетка в соединительной ткани небной миндалины. Беременная перенесла обострение герпес-вирусной инфекции с титром антител к вирусу герпеса 1:12800. Обобщенный план строения цитоплазматических гранул находится на различных стадиях активизации. Половина из них уже выполнила выделение секрета, превративших в вакуоли. Электронная микроскопия. Увеличение × 20000. Ранж – 60 пикселей

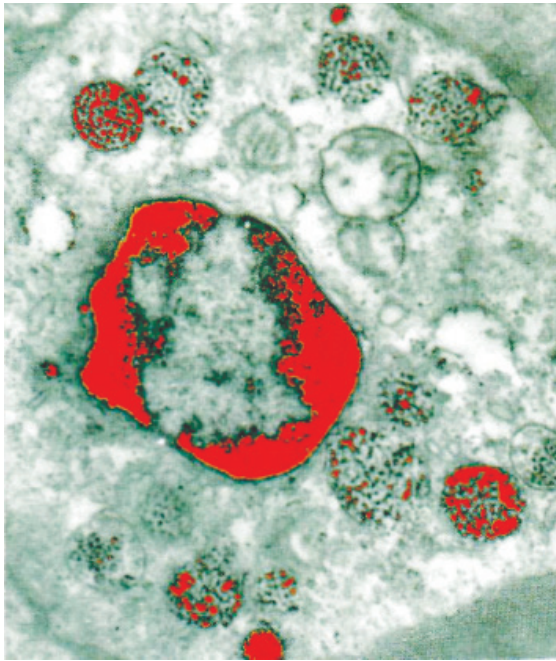


Рис. 6. Тучная клетка в соединительной ткани небной миндалины у беременной, не болевшей в течение периода гестации герпесом (контроль). Подавляющее большинство цитоплазматических гранул проявляют слабую активность. Электронная микроскопия. Увеличение $\times 20000$. Ранж – 60 пикселей

Выводы

Электронно-микроскопическое исследование тучных клеток с применением программы Biovision позволяет одновременно оценивать плотность структур и показывать, что гранулы тучных клеток в процессе активизации под влиянием JgE проходят этапы перестройки, в ходе которых можно отчетливо оценить их структурную организацию. Гранулы тучных клеток в состоянии покоя принимают кольцевидный план расположения белково-полисахаридных волокон, контактирующих друг с другом. В процессе воздействия на клетку JgE кольцевидный план строения цитоплазматических гранул теряет свою строгую организацию, разрушается связь волокон друг с другом, как и упорядоченный кольцевидный их план расположения.

По мере освобождения гранул от биологически активных веществ (гистамин, серотонин, интерлейкины) гранулы подвергаются дезинтеграции и разрушению, на первых этапах принимая вид уплотненных комкообразных структур, которые затем разрушаются протеолитическими ферментами, а на их месте остаются вакуолеобразные пустоты.

Список литературы

1. Арташян О.С. Система тучных клеток при действии на организм экстремальных факторов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – 2006. – 28 с.
2. Арташян О.С. Влияние хронической гипоксии на функциональную активность системы тучных клеток // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90, №8. – С. 175–176.
3. Арташян О.С. Изучение функциональной активности системы тучных клеток в различных тканях крыс при хронической гипоксии // Дисрегуляторная патология органов и систем: материалы III Российского конгресса по патофизиологии. – М., 2004. – 209 с.
4. Арташян О.С. Изучение функциональной активности системы тучных клеток при иммобилизационном стрессе // Бюллетень Сибирской медицины. – 2005. – Т. 4 (приложение 1). – 146 с.
5. Mast cell regulatory effect on lymphoid cell proliferation / И.С. Гуштин и др. // Agents and Actions. – 1991. – Vol. 33. – P. 185–188.
6. Гуштин И.С., Читаева В.Г., Прозоровский Н.С. Обоснование контроля аллергии на этапе IgE – запускаемой активизации клеток-мишеней // Иммунология. – 1995. – №3. – С. 55–58.
7. Гуштин И.С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль. – М.: Фармарус Принт, 1998. – 250 с.
8. Климин В.Г. Тучные клетки и гипоксия // Вестник Уральской Медицинской Академической Науки. – 2006. – №1. – С. 45–48.
9. Луценко М.Т., Коненков В.Н., Пирогов А.Б. Механизмы этиопатогенеза бронхиальной астмы. – Новосибирск: Благовещенск СО РАМН, 2002. – 239 с.
10. Anderson C., Mori. Alterations in lung mast cell populations in patients with chronic obstructive pulmonary disease // Amer. J. Resp. Crit. Care Med. – 2010. – Vol. 121. – P. 206–217.
11. Bradding P. Human lung mast cell heterogeneity // Thorax. – 2009. – Vol. 64. – P. 278–280.
12. Combs I.M. Maturation of rat mast cells: an electron microscope study // J. Cell. Biol. – 1966. – Vol. 1, №31. – P. 563–566.
13. Hoffman and all. New roles for mast cell modulating allergic reactions and immunity against pathogens. Curr. Opin. Immunol. – 2009. – Vol. 21, №6. – P. 697–698.
14. Orr T. Fine structure of the mast cell with special reference to human cells. // Scand. J. Respir. Dis. – 1977. – Suppl. 92, №1. – P. 51–58.
15. Tsao C. And all. Ultra structural identification of maste cells obtained from hymen bronchial lumens // J. Allerg. Clin. Immunol. – 1977. – Vol. 59. – P. 320–326.
16. Tucker A. Lung mast cell density and distribution in canonically hypoxic animals // J. Appl. Physiol. – 1977. – Vol. 42. – P. 174–177.

Рецензенты:

Самсонов В.П., д.м.н., старший преподаватель кафедры «Основы медицинской социологии» Амурского государственного университета, г. Благовещенск;

Соловьева А.С., д.м.н., зам. директора по научной работе НИИ охраны материнства и детства Сибирского отделения РАМН, г. Хабаровск.

Работа поступила в редакцию 07.07.2011.