

Активність лізосомальної кислої фосфатази нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові при запаленні

Исследования были выполнены на 56 половозрелых кроликах. В условиях асептического воспаления, вызванного внутримышечным введением формалина, изучали уровень активности лизосомальной кислой фосфатазы в сыворотке крови, интенсивность процессов дегрануляции гранулоцитов и взаимосвязь этих процессов с уровнем активности некоторых Хагеман-зависимых гуморальных систем крови. Показано, что изменения активности Хагеман-зависимых систем, которые определяются уровнем активности кислой фосфатазы, выходящей путем экзоцитоза из нейтрофилов, в условиях воспаления являются неспецифическим компонентом общего адаптационного синдрома.

Вступ

Реакція системи крові при дії на організм різноманітних стресорів неінфекційної природи, що виявляється абсолютним нейтрофільним лейкоцитозом, спричиненим мобілізацією кістковомозкових резервів гранулоцитів та активацією гранулоцитопоезу, є частиною неспецифічного компоненту загального адаптаційного синдрому [3, 10]. Запалення також розглядається як різновид даного синдрому, який має специфічний компонент, залежний від типу подразника, та неспецифічний — зумовлений інтенсивністю дії подразника [11]. Відомо також, що при виникненні в організмі стрес-синдрому відбувається активна дегрануляція нейтрофілоцитів, тобто зменшення числа лізосом у клітинах, що супроводжується виходом із лізосом ферментів шляхом екзоцитозу. Ці ферменти беруть участь у регулюванні ряду гомеостатичних функцій [3, 5].

Мета нашої роботи — подальше вивчення змін активності лізосомальних ферментів нейтрофілоцитів периферичної крові та їх співвідношення при запаленні та при формуванні стрес-синдрому неінфекційної природи.

Методика

Дослідження проведено на 56 безпородних дорослих кролях масою 2,5—3,2 кг. Запалення у тварин було викликали одноразовим введенням 10 %-вого розчину формаліну (1 мл/кг) внутрішньом'язово. У тварин визначали такі показники: загальне число нейтрофілів у кровообігу, інтенсивність процесів дегрануляції та рівень активності маркерного ферменту лізосом нейтрофілів — кислої фосфатази (КФ 3.2.3.1.). Загальне число нейтрофілоцитів підраховували у мазках крові, забарвлених за методикою Пігаревського [8]. Для вивчення інтенсивності дегрануляційних процесів у нейтрофілах, що циркулюють, клітини розподіляли на три групи за вмістом у них лізосом. Перша група включала в себе нейтрофільні лейкоцити з числом лізосом понад 30, друга — від 30 до 10, третя — менш, ніж 10. Активність КФ визначалася кількісно за методикою Боданського [1].

Результати дослідження опрацьовано за методом прямих розбіжностей за допомогою IBM-сумісного персонального комп'ютеру із застосуванням комплексних багатофункціональних програм.

Результати та їх обговорення

Аналіз одержаних результатів показав, що число нейтрофільних лейкоцитів у циркуляції збільшувалося з першої доби після введення формаліну. Таке підвищення тривало протягом 19 діб. Нормалізація відбувалася на 20-у добу, що й зумовило строки обстеження кролів. Динаміка перебігу нейтрофільного лейкоцитозу мала свої особливості. З 1 по 3-ю добу відзначалося значне зростання числа нейтрофілів у периферичній крові (табл. 1). Потім протягом наступних трьох діб відбувалося зниження їх кількості й на 5-у добу число нейтрофілоцитів у кровообігу було найменшим з усього періоду обстеження, проте перевищувало початковий рівень. З 6-ї по 10-у добу знов було зафіксовано збільшення числа нейтрофілів.

Таблиця 1. Вплив запалення на лізосомальний апарат нейтрофільних лейкоцитів та активність кислої фосфатази у сироватці крові кролів

Час спостереження	Число нейтрофільних лейкоцитів, ($1 \cdot 10^9$ /л)		Активність кислої фосфатази, ВЕ	
	M $\pm$ m	P	M $\pm$ m	P
До запалення	3,47 $\pm$ 0,35	...	0,13 $\pm$ 0,03	...
Після запалення через				
1 добу	+5,42 $\pm$ 0,81	<0,001	+0,34 $\pm$ 0,06	<0,001
2 доби	+7,54 $\pm$ 0,78	<0,001	+0,36 $\pm$ 0,05	<0,001
3 доби	+12,35 $\pm$ 0,92	<0,001	+0,44 $\pm$ 0,04	<0,001
4 доби	+7,21 $\pm$ 0,77	<0,001	+0,27 $\pm$ 0,08	<0,02
5 діб	+1,16 $\pm$ 0,23	<0,02	+0,21 $\pm$ 0,02	<0,001
6 діб	+5,42 $\pm$ 1,25	<0,01	+0,41 $\pm$ 0,04	<0,001
7 діб	+11,98 $\pm$ 1,30	<0,001	+0,40 $\pm$ 0,06	<0,001
8 діб	+16,45 $\pm$ 1,59	<0,001	+0,40 $\pm$ 0,06	<0,001
9 діб	+18,53 $\pm$ 1,63	<0,001	+0,47 $\pm$ 0,06	<0,001
10 діб	+20,57 $\pm$ 1,80	<0,001	+0,78 $\pm$ 0,07	<0,001
11 діб	+12,56 $\pm$ 1,76	<0,001	+0,40 $\pm$ 0,07	<0,001
12 діб	+10,54 $\pm$ 1,32	<0,001	+0,12 $\pm$ 0,03	<0,02
13 діб	11,55 $\pm$ 1,22	<0,001	+0,20 $\pm$ 0,01	<0,001
14 діб	+7,26 $\pm$ 1,25	<0,001	+0,07 $\pm$ 0,01	>0,1
15 діб	+7,86 $\pm$ 1,64	<0,001	+0,13 $\pm$ 0,01	<0,01
16 діб	+6,30 $\pm$ 1,18	<0,001	+0,08 $\pm$ 0,03	>0,1
17 діб	+5,43 $\pm$ 1,03	<0,001	+0,03 $\pm$ 0,01	>0,5
18 діб	+3,19 $\pm$ 0,87	<0,01	+0,05 $\pm$ 0,01	>0,2
19 діб	+1,77 $\pm$ 0,45	<0,01	+0,02 $\pm$ 0,01	>0,5
20 діб	+0,61 $\pm$ 0,33	>0,5	+0,03 $\pm$ 0,01	>0,5

Кількість клітин, визначена на 10-у добу, була максимальною для всього періоду обстеження. Після 10-ї доби і до закінчення дослідів число циркулюючих нейтрофілоцитів знижувалося. На 14-у та 16-у добу відзначено незначне підвищення клітин, що досліджувалися, проте ці зміни не порушували загальної тенденції.

При вивченні процесів динаміки дегрануляції нейтрофілів периферичної крові встановлено, що відсоток клітин із повним набором ефекторних гранул зменшувався протягом перших десяти діб. На 10-у добу констатовано найменший відсотковий рівень клітин першої групи (табл.2). З 11-ї доби відбувалося підвищення відсоткового вмісту нейтрофільних лейкоцитів із числом лізосом понад 30. Відсотковий вміст нейтрофілоцитів із частково редукованим гранулярним апаратом підвищувався протягом перших п'яти діб

Таблиця 2. Вплив запалення на лізосомальний апарат нейтрофілів у периферичній крові кролів ($M \pm m$)

Час спостереження	Відносне число (%) нейтрофілів, що мають		
	більше 30 лізосом	від 30 до 10 лізосом	менше 10 лізосом
До запалення	99,8 $\pm$ 0,7	0,2 $\pm$ 0,03	0,0 $\pm$ 0,00
Після запалення через			
1 добу	-36,1 $\pm$ 3,6*	+18,0 $\pm$ 1,7*	+18,1 $\pm$ 5,3**
2 доби	-43,4 $\pm$ 2,9*	+21,4 $\pm$ 1,7*	+22,0 $\pm$ 6,2**
3 доби	-52,2 $\pm$ 2,1*	+28,2 $\pm$ 2,9*	+24,0 $\pm$ 6,9**
4 доби	-57,7 $\pm$ 1,8*	+31,3 $\pm$ 3,3*	+26,4 $\pm$ 7,1**
5 діб	-62,3 $\pm$ 1,3*	+33,6 $\pm$ 6,1*	+28,7 $\pm$ 4,8*
6 діб	-70,0 $\pm$ 20,1**	+29,4 $\pm$ 2,9*	+40,6 $\pm$ 8,7*
7 діб	-78,3 $\pm$ 1,1*	+27,0 $\pm$ 3,2*	+59,3 $\pm$ 9,1*
8 діб	-83,1 $\pm$ 1,0*	+26,7 $\pm$ 1,9*	+68,4 $\pm$ 10,4*
9 діб	-88,7 $\pm$ 0,8*	+18,7 $\pm$ 0,9*	+70,0 $\pm$ 11,2*
10 діб	-90,6 $\pm$ 0,6*	+16,3 $\pm$ 0,7*	+74,3 $\pm$ 11,7*
11 діб	-87,9 $\pm$ 0,9*	+47,1 $\pm$ 3,9*	+40,8 $\pm$ 6,1*
12 діб	-85,5 $\pm$ 1,1*	+38,4 $\pm$ 3,8*	+47,1 $\pm$ 6,3*
13 діб	-79,3 $\pm$ 1,4*	+26,7 $\pm$ 2,1*	+52,6 $\pm$ 5,4*
14 діб	-72,2 $\pm$ 2,2*	+34,3 $\pm$ 3,0*	+37,9 $\pm$ 3,1*
15 діб	-63,9 $\pm$ 4,1*	+20,7 $\pm$ 1,7*	+43,2 $\pm$ 3,4*
16 діб	-51,2 $\pm$ 4,7*	+23,9 $\pm$ 1,9*	+27,3 $\pm$ 3,0*
17 діб	-44,1 $\pm$ 5,1*	+20,3 $\pm$ 0,9*	+23,8 $\pm$ 2,4*
18 діб	-35,5 $\pm$ 3,4*	+18,1 $\pm$ 1,0*	+17,4 $\pm$ 3,1*
19 діб	-21,2 $\pm$ 5,7***	+1301 $\pm$ 1,1*	+8,2 $\pm$ 1,0*
20 діб	-9,9 $\pm$ 8,1***	+6,8 $\pm$ 0,4*	+3,1 $\pm$ 0,1*

* $P < 0,001$, ** $P < 0,01$, *** $P > 0,5$.

експерименту. З 6-ї по 10-у добу зменшувалося відносне число клітин другої групи. Після цього на 11-у добу відзначено максимальний рівень вмісту досліджуваних клітин у кровообігу. У подальшому зафіксовано зменшення відсоткового рівня нейтрофілів із числом лізосом від 30 до 10, що переривалося незначними підйомами їх кількості на 14-у та 16-у доби. Відсоток повністю дегранульованих нейтрофільних лейкоцитів зростав протягом 1—10-ї діб, досягши при цьому максимального рівня на 10-у добу. Після цього відбувалося зменшення числа клітин, але на 12, 13 та на 15-у доби виявлені незначні збільшення значень цього показника.

При аналізі змін рівня активності лізосомальної КФ, що протягом перших трьох діб відбувалося підвищення активності цього ферменту. З 4-ї по 5-у добу тривало зниження активності КФ і на 5-у добу зафіксовано початковий рівень (див. табл. 1). Протягом наступних п'яти діб засвідчено значне зростання активності КФ. Воно досягло на 16-у добу свого максималь-

ного рівня. Після цього активність лізосомальної КФ знижувалася, що тривало до 20-ї доби та переривалося періодами незначних підвищень досліджуваного показника на 14-у та 16-у добу.

Приведені результати дають підставу стверджувати, що при запаленні відбувається збільшення в крові загального числа нейтрофільних лейкоцитів. При цьому значно активізуються процеси дегрануляції. Варто відзначити, що найбільший вміст нейтрофілів у кровообігу відповідає найвищій інтенсивності дегрануляційного процесу.

Рівень активності лізосомальної КФ у сироватці крові при запаленні також зростає. Разом із тим найвищий рівень активності цього ферменту співпадає з періодом найбільш вираженої дегрануляції нейтрофільних гранулоцитів, що свідчить про надходження КФ у сироватку крові саме із лізосом нейтрофілів. На користь того, що вихід лізосомальних ферментів з нейтрофільних лейкоцитів відбувається шляхом екзоцитозу може свідчити й те, що у кровообігу зберігається значна кількість повністю та частково дегранульованих клітин. Цей висновок підтверджується також даними електронної мікроскопії [4, 9].

Якщо розглядати отримані результати з позицій концепції стадіальності перебігу загального та місцевого адаптаційного синдрому, то варто відзначити, що на стадії тривоги відбувається значне збільшення числа нейтрофілів, підвищення активності КФ і зменшення кількості у досліджуваних клітинах лізосом. На стадії резистентності згадані вище процеси продовжувалися, проте були менш інтенсивними, а при виснаженні відмічено зменшення числа нейтрофільних гранулоцитів у периферичній крові, зниження активності ферменту лізосом та інтенсивності процесів дегрануляції порівняно з попередніми стадіями. Усі наведені нами зміни аналогічні за характером тим, що відбуваються, якщо роль подразника відіграє будь-який інший агент неінфекційної природи — крововтрата, зміна барометричного тиску, фізичне навантаження [6—9].

Таким чином, результати експерименту, як і дані літератури дають змогу віднести активацію нейтрофілів периферичної крові, що проявляється зменшенням вмісту в них лізосом та виходом до кровообігу лізосомальних ферментів, до неспецифічного компоненту загального адаптаційного синдрому незалежно від того, чим це викликано — дією подразника запалювального або іншого походження.

A.A.Zelenko

ACTIVITY OF LYSOSOMAL ACID PHOSPHATASE NEUTROPHILIC LEUCOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD UNDER ASEPTIC INFLAMMATION

The investigation was carried out on 56 adult rabbits. The level of activity of lysosomal acid phosphatase in blood, its dependence on a degree of degranulation of granulocytes and interaction of these processes on parameters of some humoral systems of blood controlled by the Hageman factor were investigated under conditions of aseptic inflammation caused by intramuscular injection of formaline. The conclusion is made that exocytosis of lysosomal enzymes and changes in activity levels of some humoral systems controlled by them under conditions of inflammation are nonspecific components of a general adaptation syndrome.

T.G.Shevchenko Pedagogical Institute,
Ministry of Education of Ukraine, Lugansk