

Роль тучних клітин в інфільтративних явищах при запаленні

На моделі острого інфекційного перитоніта у крыс показано, що попереднє осмотичне усунення тучних клітин брюшної порожнини призводить до посилення функціональної активності нейтрофілів і ослабленню - моноцитів очага запалення і периферическої крові. Отримані результати свідчать про те, що в естественних умовах запалення тучні клітини прямо або косвенно угнетают нейтрофіли і, навпаки, стимулюють моноцити, т.е. є модуляторами лейкоцитарної реакції очага запалення і периферическої крові.

Вступ

Збільшення числа медіаторів запалення, які виявляються, та даних про їх вплив на функції «клітин запалення» *in vitro* показують, що медіаторна регуляція, мабуть, є головною ланкою патогенезу запалення, яка координує взаємодію клітин-ефекторів запалення й визначає таким чином послідовність і вираженість подій у вогнищі, зміну клітинних фаз, перехід від розгортання запальної реакції до її вщухання. Тому важливим є дослідження ролі окремих медіаторів та їх взаємодії в інфільтративних явищах при запаленні. Першочерговий інтерес викликає великий комплекс медіаторів, що виробляються тучними клітинами (ТК), оскільки масова дегрануляція ТК є однією з перших реакцій на дію запального агента. Загальновизнана роль тучноклітинних продуктів як медіаторів початкових судинних реакцій - артеріальної гіперемії та негайної фази підвищення проникності судин - у вогнищі запалення. На цей час *in vitro* показано, що як і інші потенційні медіатори запалення, продукти ТК - гістамін, серотонін, гепарин, лейкотриєни, фактор, що активує тромбоцити, впливають на функції різних лейкоцитів (нейтрофілів, еозинофілів, базофілів, моноцитів, лімфоцитів), можуть бути модуляторами запальної та імунної реакцій [10-13]. Разом з тим дійсне значення ТК у модуляції лейкоцитарної реакції при запаленні практично не вивчене. У попередніх дослідженнях нами встановлено модулюючий вплив ТК на кількісні зміни з боку різних ланок системи крові при запаленні [4]. Метою цього дослідження було вивчення впливу ТК на функціональний стан лейкоцитів вогнища запалення та периферичної крові.

Методика

Досліди проведені на 204 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Гострий інфекційний перитоніт відтворювали внутрішньочеревинним

введенням 2 млрд ($1/2$ ЛД₅₀) мікробних тіл добової культури *E. coli*, виділеної від хворого на перитоніт, в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [1-3]. У різні строки після запалення тварин декапітували. Підрахунок загальної кількості лейкоцитів (ЗКЛ) у черевній порожнині та крові, клітинного складу ексудату та лейкоцитарної формули здійснювали за стандартними методами. Ексудат отримували промиванням черевної порожнини 5 мл ізотонічного розчину хлориду натрію, що містив 5 од/мл гепарину. Маркером функціональної активності нейтрофілів була мієлопероксидаза (МПО), моноцитів-макрофагів - α -нафтілацетат-естераза (α -НАЕ), фагоцитів обох типів - кисла (КФ) і лужна (ЛФ) фосфатази, лактатдегідрогеназа (ЛДГ). МПО та α -НАЕ в лейкоцитах ексудату та крові визначали цитохімічно за методами Грехема—Кнолля та Леффлера [5], КФ, ЛФ і ЛДГ - уніфікованими методами за допомогою наборів реактивів фірми «Лакхема» (Чехія) та фірми «Labsystems» (Фінляндія) на біохімічному аналізаторі FP-901 «Labsystems». Функціональну активність лейкоцитів оцінювали також за НСТ-тестом [7]. У початкові строки запалення до розвитку виражених явищ перетравлення мікробів (1, 2 і 3 год) також визначали показники фагоцитозу лейкоцитів ексудату. Для усунення ТК черевної порожнини за 10 діб до відтворення перитоніту внутрішньочеревинно вводили 10 мл на 100 г маси тварини дистильованої води [6, 8, 9].

Результати та їх обговорення

При дослідженні лейкоцитів ексудату за природних умов запалення виявлено, що зміна ЗКЛ у черевній порожнині шурів у динаміці запалення є двофазовою (рис. 1). Перша, більш тривала, фаза накопичення лейкоцитів спостерігалася протягом 5 діб з максимумом на 3-тю добу, коли ЗКЛ перевищувала вихідне значення в 3,4 рази. На 6-ту добу число лейкоцитів зменшувалося і вірогідно не відрізнялося від вихідного значення. Друга, короточасна, фаза спостерігалася на 7-му добу, коли ЗКЛ перевищувала контрольні значення в 1,7 разів.

Дослідження клітинного складу ексудату показало, що перша фаза зумовлена послідовною акумуляцією нейтрофілів і моноцитів, друга - посиленням інфлюксом моноцитів. У накопиченні нейтрофілів також відзначено дві вершини - на 3-тю годину та 1-шу добу, після чого число нейтрофілів поступово зменшувалося, аж до повної їх відсутності на 9-ту добу. Кількість моноцитів сягала максимуму на 3-тю та 7-му добу, перевищуючи контрольне значення в 2,3 та 1,9 разів відповідно. Активність МПО в нейтрофілах прогресивно знижувалася з мінімумом на 12-ту годину (меншим за контроль в 3,4 рази), а потім відновлювалася і на 5-ту добу вірогідно не відрізнялася від вихідного значення. Активність α -НАЕ в моноцитах-макрофагах перевищувала контроль на 5-ту та 12-ту годину після відтворення запалення (в 1,4 і 1,3 рази відповідно) й істотно не відрізнялася від вихідної в інші строки дослідження. Активність КФ у супернатантах перитонеального змиву збільшувалася на 1-шу годину після дії фло-

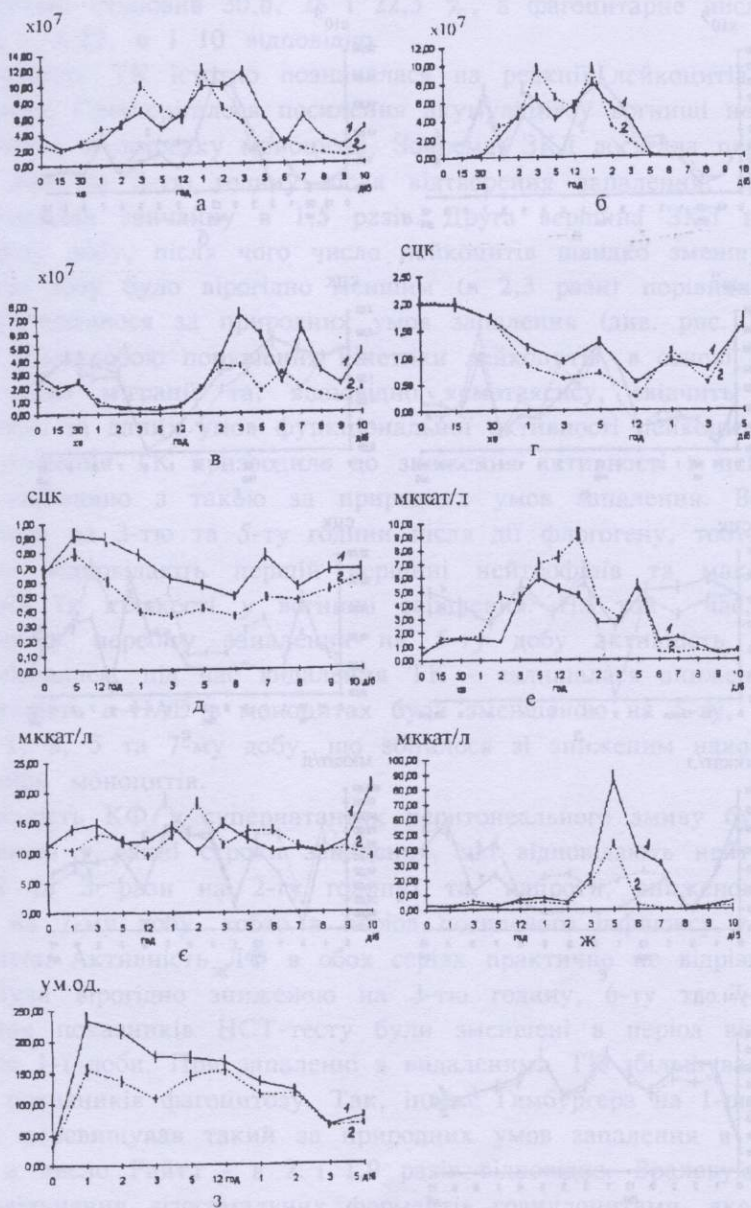


Рис. 1. Загальна кількість лейкоцитів (а), число нейтрофілів (б) і моноцитів (в) у черевній порожнині щурів; активність мієлопероксидази нейтрофілів (г) і α -нафтилацетат-естерази моноцитів (д); кислої (е) і лужної (ж) фосфатази і лактатдегідрогенази (ж) у супернатантах перитонеального зливу, показник НСТ-тесту (з) у динаміці гострого інфекційного перитоніту під час природного його розвитку (1) і при відсутності тучних клітин (2).

гогену (в 3 рази) та була найбільш вираженою в період максимальної інфільтрації, особливо нейтрофільної (3-24 год), а також моноцитарної (3 і 5 дб). Активність ЛФ підвищувалася на 3-тю та 10-ту добу. Що стосується активності ЛДГ, то вона була збільшена на 3-тю -

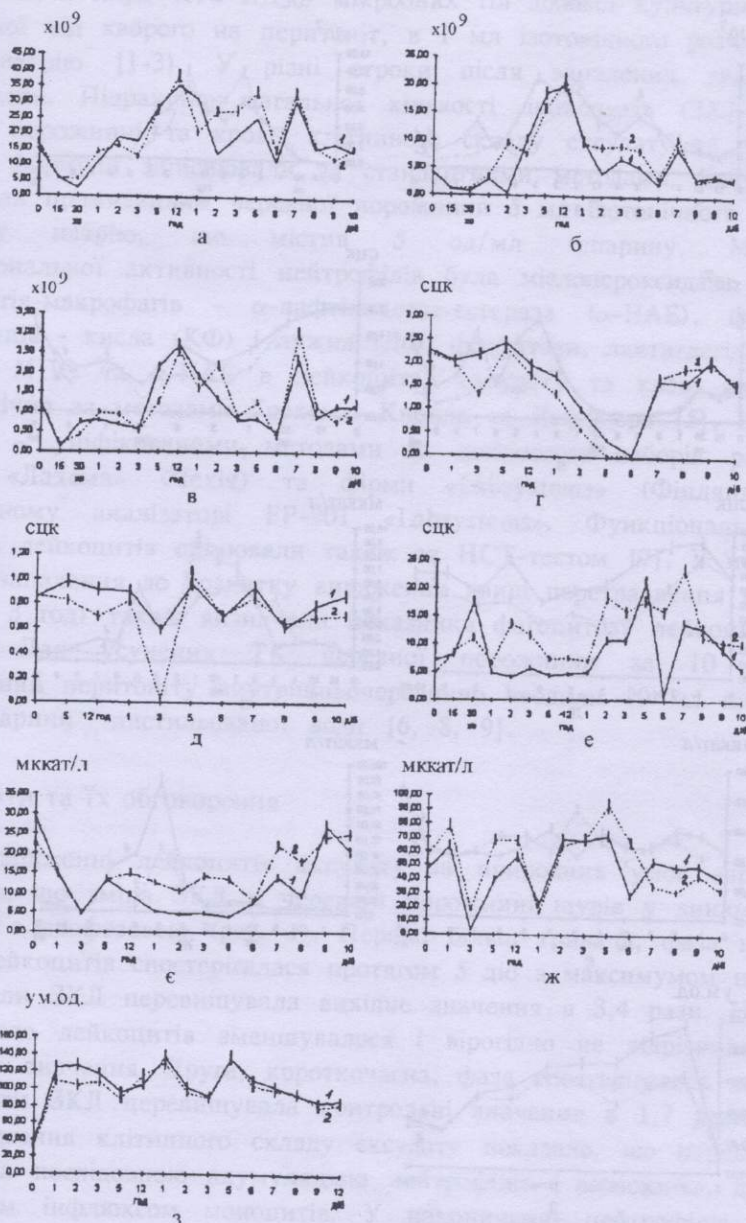


Рис. 2. Загальна кількість лейкоцитів (а), число нейтрофілів (б) та моноцитів (в) у периферичній крові щурів, активність мієлопероксидази в нейтрофілах (г), α -нафтилацетат-естерази в моноцитах (д), кислої (е) та лужної (е) фосфатази та лактатдегідрогенази (ж) в сироватці крові, показник НСТ-тесту (з) у динаміці гострого інфекційного перитоніту при природному його розвитку (1) і при відсутності тучних клітин (2).

7-му добу (перевищуючи контроль в 6,6-8,4 рази), слідом за чим різко знижувалася.

Значення показників НСТ-тесту були максимальними на 1-шу та 2-гу годину (перевищуючи контроль в 7,4 та 6,9 разів відповідно) і залишалися підвищеними протягом усього експерименту.

При дослідженні фагоцитарної активності лейкоцитів ексудату на 1, 2 та 3-тю години від початку запалення фагоцитарний індекс (індекс

Гамбургера) становив 30,6, 28 і 22,5 %, а фагоцитарне число (число Райта) - 6,22, 6 і 10 відповідно.

Відсутність ТК істотно позначалася на реакції лейкоцитів вогнища запалення. Спостерігалось посилення акумуляції у вогнищі нейтрофілів і зниження в осередку моноцитів. Зокрема, ЗКЛ досягала першої вершини вже на 3-тю годину після відтворення запалення, коли вона перевищувала звичайну в 1,5 разів. Друга вершина ЗКЛ припадала на першу добу, після чого число лейкоцитів швидко зменшувалося і на 3-тю добу було вірогідно меншим (в 2,3 рази) порівняно з тим, що спостерігалось за природних умов запалення (див. рис. 1).

Вже саме собою порушення кінетики лейкоцитів, в основі якого лежить зміна міграції та, відповідно хемотаксису, свідчить про модифікацію за даних умов функціональної активності лейкоцитів. Окрім того, усунення ТК призводило до зниження активності в нейтрофілах МПО порівняно з такою за природних умов запалення. Воно було вірогідним на 3-тю та 5-ту години після дії флогогену, тобто в строки, що відповідають першій вершині нейтрофілів та максимальній відносній їх кількості у вогнищі запалення. На той час, як при звичайному перебігу запалення на 5-ту добу активність ферменту відновлювалася, під час видалення ТК - залишалася зниженою.

Активність α -НАЕ в моноцитах була зменшеною на 5-ту, 12-ту години, 1, 3, 5 та 7-му добу, що збігалось зі зниженим накопиченням у вогнищі моноцитів.

Активність КФ у супернатантах перитонеального змиву була більш вираженою у ранні строки запалення, які відповідають нейтрофільній реакції (в 3 рази на 2-гу годину) та, напроти, зниженою (в 3,9 разів) на 7-му добу, тобто в період посиленого інфлюксу у вогнище моноцитів. Активність ЛФ в обох серіях практично не відрізнялася, а ЛДГ була вірогідно зниженою на 3-тю годину, 6-ту та 7-му добу. Значення показників НСТ-тесту були зменшені в період від 1-ї години до 1-ї доби. При запаленні з видаленими ТК збільшувалися значення показників фагоцитозу. Так, індекс Гамбургера на 1-шу та 2-гу години перевищував такий за природних умов запалення в 2,4 і 2,9 разів, а число Райта - в 2 і 1,9 разів відповідно. Враховуючи посилене звільнення лізосомальних ферментів гранулоцитами, яке свідчить про підвищення їх функціональної активності й поєднане з фагоцитозом, можна вважати, що збільшення фагоцитарного числа є наслідком посиленого захоплювання мікробів поліморфноядерними лейкоцитами. Разом з тим послаблена метаболічна активність гранулоцитів, що виявляється в НСТ-тесті, показує, що підвищення фагоцитарного числа може бути результатом незавершенності фагоцитозу.

Як і слід було очікувати, перитоніт супроводжувався вираженим нейтрофільним лейкоцитозом, який визначався до 7-ї доби (рис. 2). Активність МПО в нейтрофілах крові, починаючи з 12-ї години, поступово знижувалася, досягаючи мінімуму на 6-ту і відновлювалася на 9-ту добу. Вірогідна зміна (підвищення) активності α -НАЕ в моноцитах крові відбувалася на 5-ту годину після відтворення запалення. Ак-

тивність КФ у сироватці крові була підвищеною через 30 хв, 3, 5 і 7 діб і відновлювалася на 10-ту добу. Активність ЛФ зменшувалася на 3-тю годину (в 6,3 рази) та з 1-ї по 5-ту доби. Активність ЛДГ знижувалася на 3-тю годину, та підвищувалася на 5-ту добу в 13,4 і 1,5 разів відповідно. Значення НСТ-тесту були підвищеними протягом усього експерименту з максимумом на 1-шу та 2-гу години від початку запалення.

Під час запалення при відсутності ТК вираженість і динаміка нейтрофілії мало відрізнялися від таких, що спостерігалися за природних умов розвитку перитоніту (див. рис. 2). Активність МПО в нейтрофілах крові була вірогідно зниженою на 3-тю годину та на 5-ту добу (в 1,6 та 9,4 рази відповідно). Активність α -НАЕ в моноцитах крові була зменшеною на 5-ту та 12-ту години. Активність КФ у сироватці крові була підвищеною на 3-тю годину.

Примітно, що за умов видалення ТК спостерігалися зрушення другої вершини підйому активності КФ з 5-ї на 6-ту добу, а також підвищена активність ферменту порівняно з вихідним значенням (у 2 рази) на 10-ту добу, що збігається зі зміною кінетики лейкоцитів за даних умов, яка свідчить про затримку вщухання запальної реакції. Через 3 год після дії флогену відзначалося більш помітне підвищення активності ЛФ і зниження - ЛДГ. Що стосується значень показників НСТ-тесту, то вони були вірогідно підвищені на 1-шу та 2-гу годину.

Таким чином, відсутність ТК у вогнищі запалення спричинювала посилену функціональну активність нейтрофілів і послаблену - моноцитів у вогнищі запалення та периферичній крові. Отримані результати свідчать, що за природних умов запалення ТК стримують функціональну активність нейтрофілів і, навпаки, стимулюють активність моноцитів, тобто є модуляторами лейкоцитарної реакції вогнища та периферичної крові. Зважаючи на переважну роль нейтрофілів і моноцитів відповідно в розгортанні та вщуханні запальної реакції, можна вважати, що модулюючий вплив ТК на лейкоцити при запаленні направлений на обмеження альтеративних та посилення проліферативних явищ. Характер модулюючого впливу ТК на лейкоцити показує, що поряд з відомими прозапальними судинними ефектами ТК чинять протизапальні клітинні.

N.A.Klimenko, G.U.Pyshnov

ROLE OF MAST CELLS IN INFILTRATION PHENOMENON IN INFLAMMATION

On the model of the acute infectious peritonitis in rats it is shown that the previous osmotic depletion of the peritoneal mast cell population leads to the increased functional activity of neutrophils and decreased of monocytes of the inflammatory focus and blood. The results indicate that in the natural inflammatory conditions mast cells directly or indirectly

inhibit neutrophils and stimulate monocytes, i.e. they are the modulators of leukocytic reaction.

Kharkov Medical University
Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Клименко М.О. Роль лейкоцитів у підвищенні проникності судин вогнища інфекційного запалення // Фізіол. журн. - 1992. - 8, № 1. - С. 68-72.
2. Клименко М.О., Татарко С.В. Тучні клітини у вогнищі гострого інфекційного запалення // Там же. - С. 64-68.
3. Клименко Н.А. Взаимодействие тучных клеток с лейкоцитами в повышении проницаемости сосудов очага воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1992. - 113, № 1. - С. 28-30.
4. Клименко Н.А., Дыгай А.М., Абрамова Е.В. и др. Роль тучных клеток в реакциях системы крови при воспалении // Там же. - 1991. - 112, № 9. - С. 305-307.
5. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В.Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
6. Липищ Р.У., Клименко Н.А. Освобождение гистамина и серотонина и проницаемость сосудов в очаге острого асептического воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1977. - 84, № 12. - С. 660-664.
7. Шубич М.Г., Медникова В.Г. NBT-тест у детей в норме и при гнойно-бактериальных инфекциях // Лаб. дело. - 1978. - № 9. - С. 515-518.
8. Czarnetzki B.M., Wiillenweber I. In vitro migratory response of rat peritoneal macrophages and mast cells towards chemotactic factors and growth factors // J.Invest. Dermatol. - 1988. - 91, № 3. - P. 224-227.
9. Kanakura Y., Kuriu A., Waki N. et al. Changes in numbers and types of mast cell colony-forming cells in the peritoneal cavity of mice after injection of distilled water: evidence that mast cells suppress differentiation of bone marrow-derived precursors // Blood. - 1988. - 71, № 3. - P. 573-580.
10. Mannaioni P.F., Fantozzi R., Giannella E., Masini E. Pathophysiological significance of the distribution of histamine receptor sub-types: a proposed dual role for histamine in inflammation and type 1 hypersensitivity reactions // Agents and Actions. - 1988. - 24, № 1-2. - P. 26-34.
11. Melmon K.L., Rocklin R.E., Rosenkranz R.P. Autacoids as modulators of the inflammatory and immune response (Rev.) // Amer. J.Med. - 1981. - 71, № 1. - P. 100-106.
12. Paegelow I., Werner H. Acute inflammation, inflammatory mediators and mononuclear cell reaction (Rev.) // Wiss. Beitr. M.-Luther-Univ. Halle - Wittenberg. - 1987. - V.R., № 100 - P. 114-123.
13. Plaut M., Lichtenstein L.M. Histamine and immune responses (Rev.) // Pharmacology of histamine receptors / Ed. C.R. Gannellin, M.E.Parsons. - Bristol etc.: Wright PSG, 1982. - P. 392-481.

Харків. мед. ін-т
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 06.07.94