

Роль активних радикалів кисню в реакціях системи крові при запаленні

На модели карагиненового острого асептического перитонита у крыс с использованием α -токоферола показано, что активные радикалы кислорода усиливают грануломоноцитопоз, лейкоцитоз и стимуляцию нейтрофилов крови, аккумуляцию и активацию нейтрофилов очага, уменьшают аккумуляцию и стимуляцию моноцитов очага и являются, таким образом, провоспалительными модуляторами реакций системы крови.

Вступ

Раніше нами показано модулюючий вплив тучних клітин на реакції системи крові при запаленні та деякі його механізми, пов'язані з ефектами основних тучноклітинних біологічно активних продуктів - гістаміну, серотоніну, гепарину [5, 6]. Ці дані лягли в основу уявлення про медіаторну регуляцію (модуляцію) гемопоезу при запаленні [3]. Встановлено, що модуляція тучними клітинами гемопоезу при запаленні багато в чому зумовлена їх впливом на акумуляцію і функціональну активність лейкоцитів, вивільнення останніми хемотаксичних і гемопоезних факторів [5-7]. Лейкоцити є джерелом основних медіаторів запалення, чим і спричинена їх роль як головних ефекторів цього процесу. Відповідно, біологічно активні продукти лейкоцитів є основними компонентами всього медіаторного каскаду, а стимуляція цих клітин - певно, пусковим фактором активації гемопоезу і механізму самопідтримки лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення в цілому. Таким чином, значний інтерес становить вивчення ролі медіаторів, що вивільнюються лейкоцитами, в реакціях системи крові при запаленні.

Серед медіаторів і модуляторів запалення, які продукуються стимульованими лейкоцитами, істотне значення надається активним метаболітам кисню (АМК) [10-15], що дозволяє припустити їх важливу роль у механізмах самопідтримки лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення. Разом з тим не досліджене значення АМК у лейкоцитарній реакції всіх ланок системи крові при запаленні (кісткового мозку, периферичної крові, вогнища), які беруть участь у самопідтримці інфільтрації.

Мета нашого дослідження - вивчення реакцій системи крові при запаленні за умов пригнічення АМК - токоферолом.

Методика

Досліди виконані на 108 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Моделлю запалення був гострий асептичний перитоніт, який виклика-

ли внутрішньочеревні
США) в 1 мл ізот
строки запалення
кількість мієлокаріоц
гальну кількість лей
кількість лейкоцитів
активності нейтрофі
(К.Ф.1.11.7; МПО),
(НАЕ), маркером л
(К.Ф.3.1.3.2; КФ), я
- Кнолля, Леффлера
у дозі 50 мг/кг вв
експерименту, почи
відтворенням запале

Результати та їх обг

При запаленні на ф
була виражена слаб
незрілих і зрілих не
мозку підвищувалася

Кількість нейтрофілів при розвитку запалення, у крові не перевищує норму, тобто моноцитоз не розраховується на підвищення активності МФД. Значення МФД зростає за природних умов, сильніша стимуляція відбувається в ранній і більш значущій фазі, ніж в 2 доби було істотно.

Акумуляція нейтр - збільшеною до 3- шення другої верши кількість у вогниці на 5-ту і 10-ту до нейтрофільної реаки добу був нижчим, і призводити до більш палення в цілому. меншій активації г моноцитозу, властив

Відзначалася мені
лення, активація н
МПО спостерігалос
при звичайному ро
значно більшою мі
відновлювалася білы

ли внутрішньочеревним введенням 5 мг λ -карагінену (фірми «Sigma», США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [1, 4]. У різні строки запалення тварин декапітували. Підраховували загальну кількість мієлокаріоцитів у кістковому мозку стегна і мієлограму, загальну кількість лейкоцитів у крові і лейкоцитарну формулу, загальну кількість лейкоцитів і їх склад в ексудаті. Маркером функціональної активності нейтрофілів ексудату та крові була мієлопероксидаза (К.Ф.1.11.7; МПО), моноцитів-макрофагів - α -нафтилацетат-естераза (НАЕ), маркером лізосом лейкоцитів обох типів - кисла фосфатаза (К.Ф.3.1.3.2; КФ), які визначали цитохімічно за методиками Грехема - Кнолля, Леффлера та Берстона відповідно [8]. α -токоферолу ацетат у дозі 50 мг/кг вводили внутрішньом'язово щодоби протягом усього експерименту, починаючи за 4 доби до дослідження, перед відтворенням запалення - за 30 хв [2, 9].

Результати та їх обговорення

При запаленні на фоні дії токоферолу активація грануломоноцитопоезу була виражена слабше, ніж за природних умов запалення. Кількість незрілих і зрілих нейтрофілів гранулоцитів і моноцитів у кістковому мозку підвищувалася незначно і з запізненням (рис. 1).

Кількість нейтрофілів у крові була меншою, ніж при звичайному розвитку запалення, через 3, 6, 12 год і 1 добу. Число моноцитів у крові не перевищувало контролю протягом усього експерименту, тобто моноцитоз не розвивався (рис. 2). Спостерігалось також менше виражене підвищення функціональної активності нейтрофілів крові. Зниження активності МПО було повільнішим до 1-ї доби замість 6-ї години за природних умов запалення. В той же час спостерігалася більш сильніша стимуляція моноцитів. Підвищення активності НАЕ було раннім і більш значним. Зниження активності КФ через 3, 6 год, 1 і 2 доби було істотнішим (див. рис. 2).

Акумуляція нейтрофілів в ексудаті була різко зниженою, моноцитів - збільшеною до 3-ї доби (рис. 3). Разом з тим спостерігалось зрушення другої вершини нейтрофілів з 1-ї на 5-ту добу, так що їх кількість у вогнищі перевищувала таку за природних умов запалення на 5-ту і 10-ту добу, що свідчить про деяку затримку закінчення нейтрофільної реакції. Напроти, вміст моноцитів-макрофагів на 10-ту добу був нижчим, ніж при звичайному розвитку запалення, що може призводити до більш раннього завершення моноцитарної реакції і запалення в цілому. Посилена акумуляція моноцитів у вогнищі при меншій активації грануломоноцитопоезу може пояснювати відсутність моноцитозу, властивого звичайному ходу запалення.

Відзначалася менше виражена, ніж при природному розвитку запалення, активація нейтрофілів ексудату. Зниження в них активності МПО спостерігалось лише через 3, 6 год 5 і 10 діб, тим часом як при звичайному розвитку запалення - в усі строки дослідження і значно більшою мірою. Активність НАЕ моноцитів на 12-ту годину відновлювалася більше, але була нижчою через 1 і 2 доби. Активність

ні

ического перитонита у крыс
р, что активные радикалы
з, лейкоцитоз и стимуля-
и активацию нейтрофилов
уляцию моноцитов очага и
льными модуляторами реак-

в тучних клітин на реакції
його механізми, пов'язані з
гічно активних продуктів -
і дані лягли в основу уяв-
лю) гемопоєзу при запаленні
клітинами гемопоєзу при за-
впливом на акумуляцію і
льнення останніми хемотак-
коти є джерелом основних
роль як головних ефекторів
ивні продукти лейкоцитів є
ного каскаду, а стимуляція
активації гемопоєзу і ме-
льтрації вогнища запалення
ес становить вивчення ролі
и, в реакціях системи крові

ння, які продукуються сти-
ня надається активним мета-
ляє припустити їх важливу
тарної інфільтрації вогнища
чення АМК у лейкоцитарній
ленні (кісткового мозку, пе-
ь у самопідтримці інфільтрації.
акцій системи крові при за-
феролом.

інії Вістар масою 180-200 г.
ий перитоніт, який виклика-

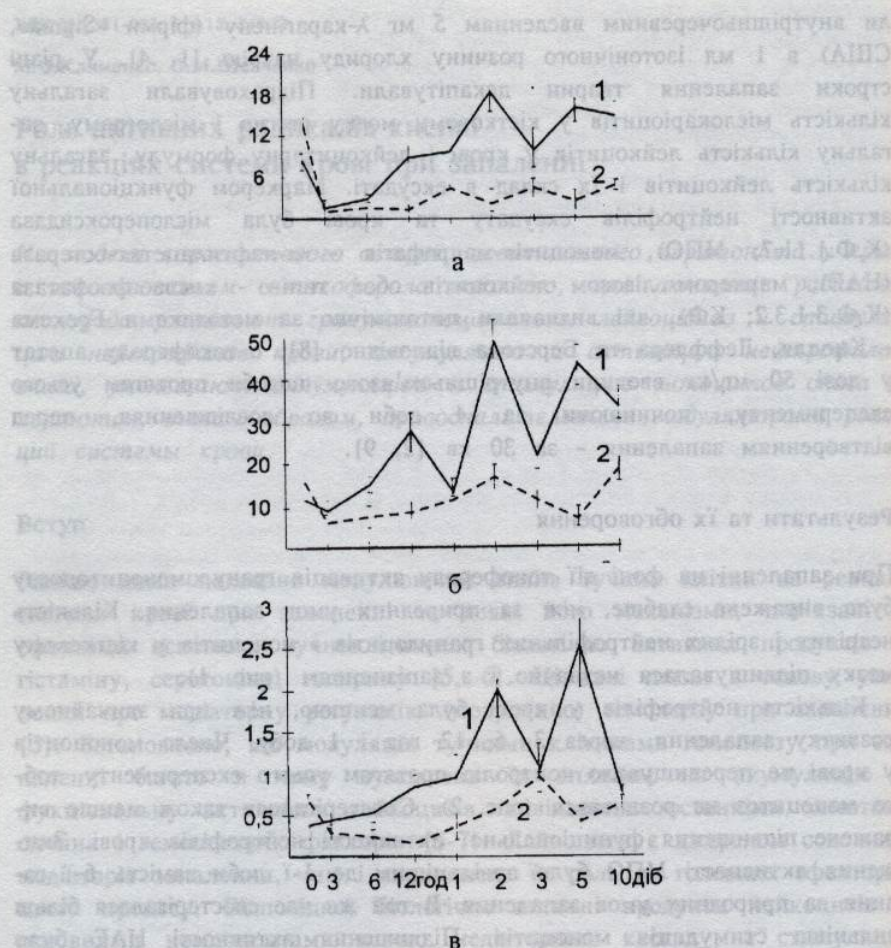


Рис. 1. Кількість незрілих (а), зрілих нейтрофілних гранулоцитів (б) і моноцитів (в) у кістковому мозку щурів ($\times 10^6$ на стежно) у динаміці карагієнового гострого асептичного перитоніту за природних умов його розвитку (1) і на фоні дії α -токоферолу (2).

КФ лейкоцитів ексудату переважала таку при звичайному розвитку запалення майже в усі строки дослідження, за винятком 3-ї і 5-ї доби (див. рис. 3). Менш значне зниження МПО в нейтрофілах крові та ексудату при запаленні на фоні дії токоферолу може пояснюватися також зменшенням кількості субстрату (H_2O_2) для утворення мієлопероксидазою гіпохлориту і комплексів H_2O_2 - мієлопероксидаза. Очевидно, що активність ферментів у лейкоцитах при запаленні залежить від змін кінетики останніх, оскільки активність ферментів у лейкоцитах різного ступеня зрілості розрізняється.

Таким чином, при запаленні на фоні дії токоферолу спостерігалися менш виражені активація грануломоноцитопоезу, лейкоцитоз і стимуляція нейтрофілів крові, акумуляція й активація нейтрофілів ексудату. Отримані результати свідчать про те, що за природних умов запален-

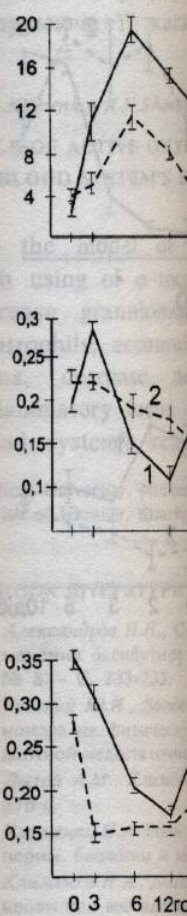


Рис. 2. Число ($\times 10^9$ /л) у кислої фосфатази мієло і кислої фосфатази лей гострого асептичного перитоніту (2). Тут і на рис. 3

ня АМК значно п муляцію нейтрофі. вогнища.

Разом з тим при виражену активації вогнищі, що вказує ноцити. Це збігаєт рекисного окисленн їх хемотаксис і фе нейтрофілів і моно ня, можна вважати

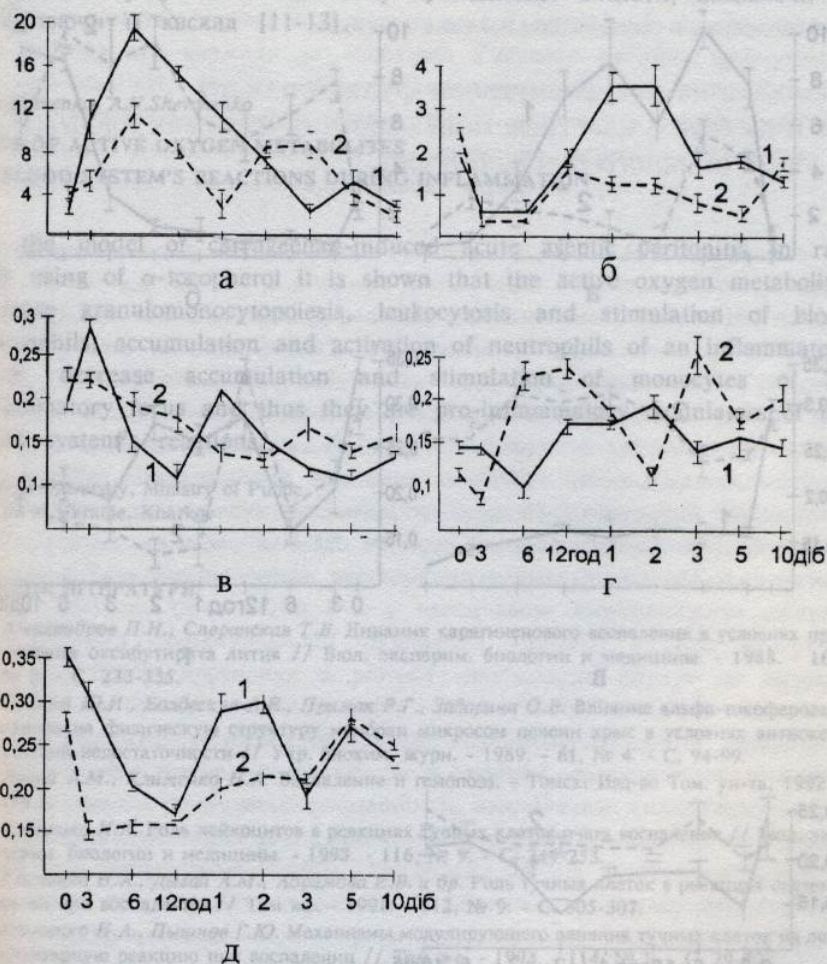


Рис. 2. Число ($\times 10^9/l$) сегментоядерних нейтрофілів (а) і моноцитів (б), активність (СЦК) у кислої фосфатази мієлопероксидази нейтрофілів (в), α -нафтилацетат-естерази моноцитів (г) і кислої фосфатази лейкоцитів (д) у периферичній крові шурів у динаміці карагіненового гострого асептичного перитоніту за природних умов його розвитку (1) і на фоні дії α -токоферолу (2). Тут і на рис. 3 СЦК - середній цитохімічний коефіцієнт.

ня АМК значно посилюють грануломоноцитопоез, лейкоцитоз і стимуляцію нейтрофілів крові, акумуляцію та активацію нейтрофілів вогнища.

Разом з тим при запаленні на фоні дії токоферолу відзначено більш виражену активацію моноцитів крові та ексудату й акумуляцію їх у вогнищі, що вказує на можливість пригнічуючого впливу АМК на моноцити. Це збігається з даними літератури про те, що продукти перекисного окислення ліпідів можуть пригнічувати функції макрофагів, їх хемотаксис і ферментну активність [11]. Враховуючи визначну роль нейтрофілів і моноцитів відповідно в розгортанні і вщуханні запалення, можна вважати, що АМК є прозапальними модуляторами реакцій

улицтв (б) і моноцитів (а) у ювого гострого асептичного перитокферолу (2).

ри звичайному розвитку за винятком 3-ї і 5-ї ІПО в нейтрофілах крові еролу може пояснюватися (H_2O_2) для утворення H_2O_2 - мієлопероксидаза. дитах при запаленні за- активність ферментів у ться.

окоферолу спостерігалися зу, лейкоцитоз і стиму- ція нейтрофілів ексудату. природних умов запален-

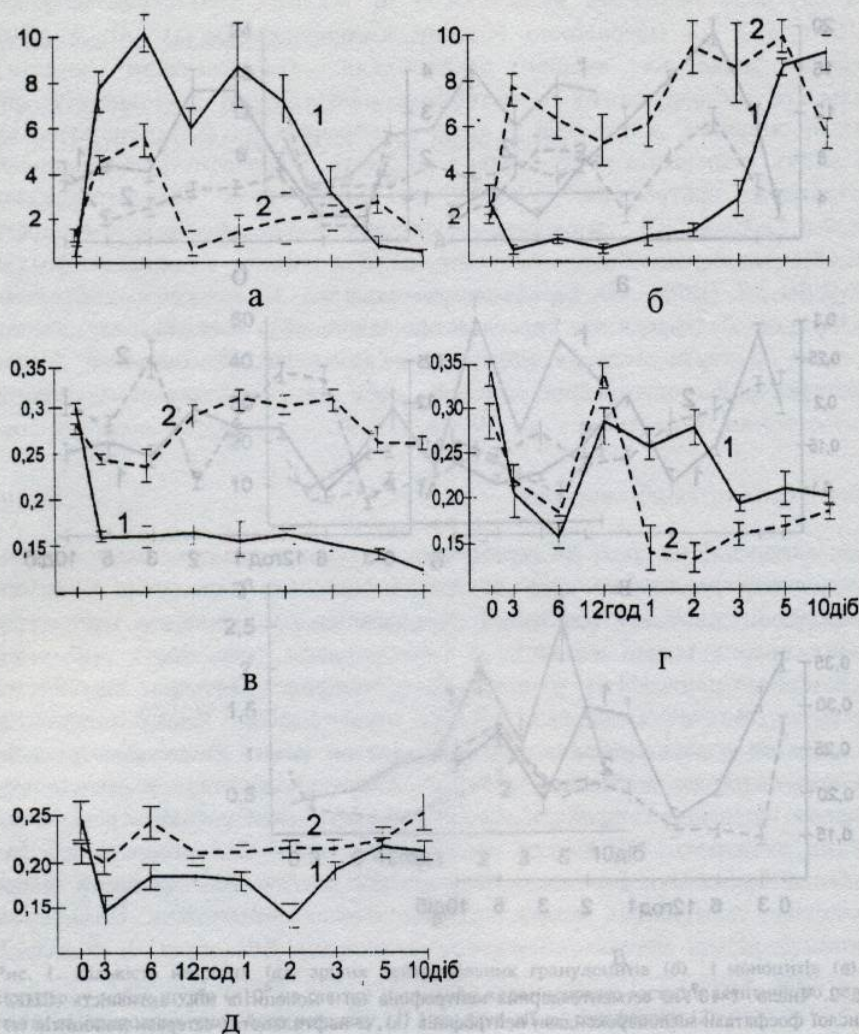


Рис. 3. Кількість ($\times 10^7$ на черевну порожнину) нейтрофілів (а) і моноцитів (б), активність (СПК) міelopероксидази нейтрофілів (в), α -нафтилацетат-естерази моноцитів (г) і кислій фосфатази лейкоцитів (д) в екссудаті щурів у динаміці карагіненового гострого асептичного перитоніту за природних умов його розвитку (1) і на фоні дії α -токоферолу (2).

системи крові. Виявлені ефекти АМК у відношенні реакцій системи крові при запаленні, багато в чому зумовлені їх здатністю викликати перекисне окислення ліпідів, окислення білків, вуглеводів, пошкодження нуклеїнових кислот і, відповідно, опосередковані їх продуктами. Зокрема, АМК можуть активувати інші медіатори, які є, в свою чергу, сильними хемотаксичними та гемопоетичними факторами. АМК не тільки вивільнюють, а й інактивують інші медіатори, наприклад, лізосомальні гідролази [11, 13]. Вважається, що особливо АМК мають

значення в регуляції модулюючи її каска

N.A.Klimenko, A.N.Shevche
ROLE OF ACTIVE OXYGEN
IN BLOOD SYSTEM'S RE

On the model of c
with using of α -toco
increase granulomono
neutrophils, accumula
focus, decrease acc
inflammatory focus a
blood system's reacti

Medical University, Ministry
Health of Ukraine, Kharkov

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Александров П.Н., Спеменина оксидирующая № 8. - С. 233-235.
2. Губский Ю.И., Болдескионола на физическую данную недостаточность.
3. Дыгай А.М., Клименко 276 с.
4. Клименко Н.А. Роль перим. биологии и мед.
5. Клименко Н.А., Дыгай крови при воспалении.
6. Клименко Н.А., Пышная когнитивную реакцию.
7. Клименко Н.В., Дыгай интерлейкина-1 макро 1993. - 115, № 6. - С.
8. Лабораторные методы цина, 1987. - 368 с.
9. Левшина И.П., Курочки с диметилсульфоксидом вием при хроническом тельности. - 1988. - 38
10. Петрович Ю.А., Гуты воспаления, ишемии и
11. Blake D.R., Allen R.E. inflammatory processes /
12. Hertz F., Cloarec A. Pha
13. Hirschelmann R. Oxege - Wittenberg. - 1987. -
14. Lander B. Free radicals, P. 305-310.
15. Ward P.A., Warren J.S. Radic. Biol. and Med. -

Харків. мед. ун-т
М-ва охорони здоров'я Укр

значення в регуляції метаболізму арахідонової кислоти, ініціюючи та модулюючи її каскад [11-13].

N.A.Klimenko, A.N.Shevchenko

ROLE OF ACTIVE OXYGEN METABOLITES IN BLOOD SYSTEM'S REACTIONS DURING INFLAMMATION

On the model of carrageenan-induced acute aseptic peritonitis in rats with using of α -tocopherol it is shown that the active oxygen metabolites increase granulomonocytopoiesis, leukocytosis and stimulation of blood neutrophils, accumulation and activation of neutrophils of an inflammatory focus, decrease accumulation and stimulation of monocytes of an inflammatory focus and thus they are pro-inflammatory modulators of the blood system's reactions.

Medical University, Ministry of Public
Health of Ukraine, Kharkov

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Александров П.Н., Сперанская Т.В. Динамик карагенинового воспаления в условиях применения оксипутирата лития // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1988. - 106, № 8. - С. 233-235.
2. Губский Ю.И., Болдескул А.Е., Примак Р.Г., Задорина О.В. Влияние альфа-токоферола и ионола на физическую структуру мембран микросом печени крыс в условиях антиоксидантной недостаточности // Укр. биохим. журн. - 1989. - 61, № 4. - С. 94-99.
3. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоз. - Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. - 276 с.
4. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакциях тучных клеток очага воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1993. - 116, № 9. - С. 249-253.
5. 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.
6. Клименко Н.А., Пышинов Г.Ю. Механизмы модулирующего влияния тучных клеток на лейкоцитарную реакцию при воспалении // Там же. - 1993. - 114, № 1. - С. 29-30.
7. Клименко Н.В., Дыгай А.М., Богдашин И.В. и др. Влияние тучных клеток на продукцию интерлейкина-1 макрофагами экссудата икостного мозга при воспалении // Там же. - 1993. - 115, № 6. - С. 599-600.
8. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В.Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
9. Левшина И.П., Курочкина Е.П., Обидин А.Б., Гуляева Н.В. Альфа-токоферол в комплексе с диметилсульфоксидом - средство, обладающее высокоэффективным адаптогенным действием при хроническом эмоционально-болевым стрессе у крыс // Журн. высш. нерв. деятельности. - 1988. - 38, вып. 3. - С. 533-539.
10. Петрович Ю.А., Гуткин Д.В. Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Патол. физиология. - 1986. - № 5. - С. 85-92.
11. Blake D.R., Allen R.E., Lunec J. Free radicals in biological systems: A review orientated to inflammatory processes // Brit. Med. Bull. - 1987. - 43, № 2. - P. 371-385.
12. Hertz F., Cloarec A. Pharmacology of free radicals // Life Sci. - 1984. - 34, № 8. - P. 713-720.
13. Hirschelmann R. Oxygen free radicals and inflammation // Wiss. Beit. M.Luther - Univ. Halle - Wittenberg. - 1987. - R. № 100. - P. 82-94.
14. Lander B. Free radicals, ischemia and inflammation // Rev. Paul. Med. - 1986. - 104, № 6. - P. 305-310.
15. Ward P.A., Warren J.S., Johnson K.J. Oxygen radicals, inflammation, and tissue injury // Free Radic. Biol. and Med. - 1988. - 5, № 5-6. - P. 403-408.

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

Матеріал надійшов
до редакції 13.09.96