

М. О. Клименко, О. М. Шевченко

Роль лізосомальних протеїназ у реакціях системи крові при запаленні

На моделі карагіненового острого асептического перитонита у крыс показано, що при воспалении на фоне введения контрикала усиливаются аккумуляция и стимуляция лейкоцитов очага, активация грануломоноцитопоза и лейкоцитов крови, и раньше стихает инфильтрация. Результаты свидетельствуют о том, что при естественном развитии воспаления лизосомальные протеиназы ограничивают аккумуляцию и стимуляцию лейкоцитов очага, активацию грануломоноцитопоза и лейкоцитов крови и пролонгируют воспалительную реакцию, то есть угнетают защитно-приспособительные реакции системы крови при воспалении.

Вступ

В лейкоцитарній інфільтрації вогнища запалення, поряд з такими відомими хемоатрактантами, як фрагменти комплементу, фібринопептиди та продукти деградації фібрину, калікреїн, проактиватор плазміногену, фрагменти колагену, фібронектин, бактеріальні пептиди [9], істотно значення надається механізму її саморегуляції, тобто продуктам життєдіяльності і розпаду лейкоцитів вогнища та крові, що можуть виступати як власне хемоатрактанти, модулятори інфільтрації — внаслідок утворення та розщеплення перерахованих та інших хемоатрактантів, регуляції адгезії, проникності судин (ПС) тощо, — стимулятори та модулятори гемопоезу [1]. Припускається, що активція гемопоезу при запаленні ініціюється гемопоетичними факторами, які вивільнюються стимульованими лейкоцитами вогнища та периферичної крові [1, 6]. Окрім класичних гемопоетичних речовин, якими є різні типи колонієстимулюючих факторів, в активації гемопоезу істотно значення, очевидно, відіграють також медіатори запалення. Зокрема, в попередніх дослідженнях показана роль активних форм кисню, циклооксигеназних і ліпоксигеназних похідних арахідонової кислоти в реакціях системи крові при запаленні [3, 4].

Мета нашого дослідження — вивчення реакцій системи крові при запаленні за умов пригнічення лізосомальних протеїназ контрикалом.

Методика

Досліди виконані на 108 щурах-самцях Вістар масою 180–200 г. Гострий асептичний перитоніт моделювали внутрішньочеревним введенням 5 мг λ -карагінену (фірми «Sigma», США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [2]. У різні строки запалення тварин декапітували. Підраховували загальну кількість лейкоцитів (ЗКЛ) і їх склад в ексудаті і крові, загальну кількість каріоцитів (ЗКК) на стежно та мієлограму. Показником функціональної активності нейтрофілів ексудату та крові була мієлопероксидаза

© М. О. Клименко, О. М. Шевченко

(МПО, К.Ф.1.11.1.7), моноцитів-макрофагів α -нафтилацетатестераза (α -НАЕ), маркером лізосом лейкоцитів обох типів — кисла фосфатаза (КФ К.Ф.3.1.3.2), які визначали цитохімічно згідно з методами Грехема-Кнолля, Леффлера і Берстона [5].

Контрикал вводили внутршньом'язово в дозі 10 кг маси за 12 і 2 год до відтворення запалення, а потім двічі на добу [7].

Результати та їх обговорення

Введення контрикалу призводило до помітних змін кінетики клітин крові ще до відтворення запалення. Відзначали збільшення ЗКЛ, вмісту нейтрофілів і моноцитів у черевній порожнині, підвищення ЗКК, вмісту моноцитів, тенденція до збільшення кількості незрілих і зрілих нейтрофільних гранулоцитів у кістковому мозку, збільшення ЗКЛ і вмісту окремих форм лейкоцитів у крові, що свідчить про посилене кровотворення, надходження лейкоцитів до крові та тканин.

При вивченні ЗКЛ і їх клітинного складу в ексудаті на фоні дії контрикалу виявлено, що перша фаза підвищення ЗКЛ скорочувалася до 6-ї години,

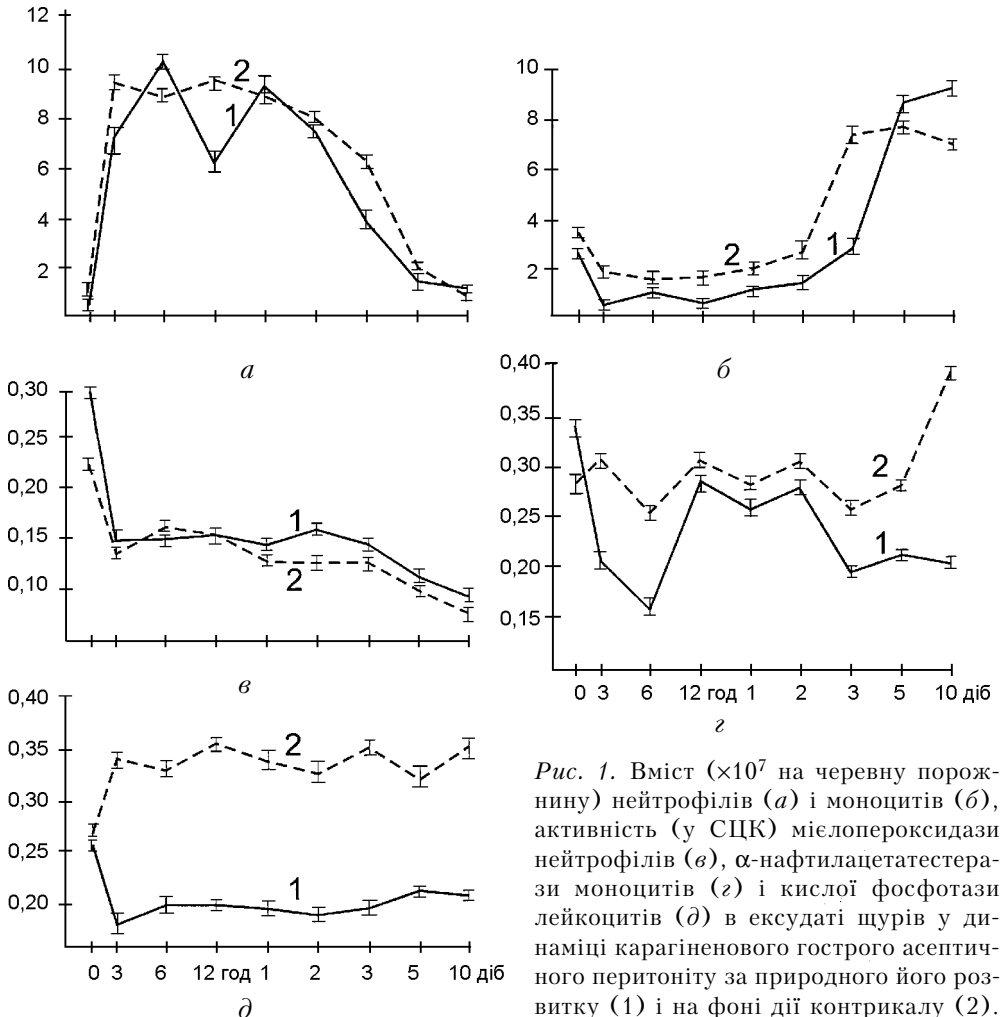


Рис. 1. Вміст ($\times 10^7$ на черевну порожнину) нейтрофілів (а) і моноцитів (б), активність (у СЦК) мієлопероксидази нейтрофілів (в), α -нафтилацетатестерази моноцитів (г) в ексудаті шурів у динаміці карагіненового гострого асептичного перитоніту за природного його розвитку (1) і на фоні дії контрикалу (2).

максимум її зсувався на 3-тю годину (проти 6-ї години), а ЗКЛ значно перевищувала таку за природного перебігу запалення - в 1,4 раза через 3 год. У другій фазі максимум ЗКЛ, зсувався на 12-ту годину (проти 1-ї доби), і через 12 год, 1 і 2 доби ЗКЛ перевищувала те значення, що спостерігалось при звичайному розвитку запалення, відповідно в 1,7; 1,1 і 1,2 раза. В третій фазі також відзначався зсув максимуму ЗКЛ (на 3-тю добу проти 5-ї доби), і ЗКЛ була вищою, ніж за звичайних умов запалення, — в 2,1 раза на 3-тю добу. Акумуляція нейтрофілів в ексудаті була посилена через 3, 12 год і 3 доби, накопичення моноцитів — до 3-ї доби і було меншим через 5 і 10 діб, що свідчить про випереджаюче вщухання інфільтрації (рис. 1).

Спостерігалось також більш виражене підвищення функціональної активності лейкоцитів ексудату. Активність МПО нейтрофілів була знижена в обох випадках і динаміка її істотно не розрізнялася; проте на 2-гу добу вона була вірогідно меншою при запаленні на фоні дії контрикалу. Активність α -НАЕ моноцитів була більшою через 3, 6 год, 5 і 10 діб. Активність КФ лейкоцитів ексудату була вищою від контролю у всі строки дослідження, на той час як за природних умов запалення — нижчою. Це вказує на те, що зміни активності ферментів багато в чому пов'язані зі змінами кінетики лейкоцитів (див. рис. 1).

При вивченні кістковомозкового кровотворення встановлено, що застосування контрикалу призводило до більш ранньої і значнішої активації гемопоезу. Так, ЗКК досягала максимальних значень уже на 2-гу добу (в 4,2 раза перевищуючи вихідне значення), на той час як при природному перебігу запалення — на 5-ту добу (в 3,1 раза). Крім того, до 2-ї доби ЗКК була вищою, ніж при звичайному розвитку запалення. Вміст незрілих і зрілих нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів у кістковому мозку перевищував такий за природного перебігу запалення практично з 3-ї години до 2-ї доби (рис. 2).

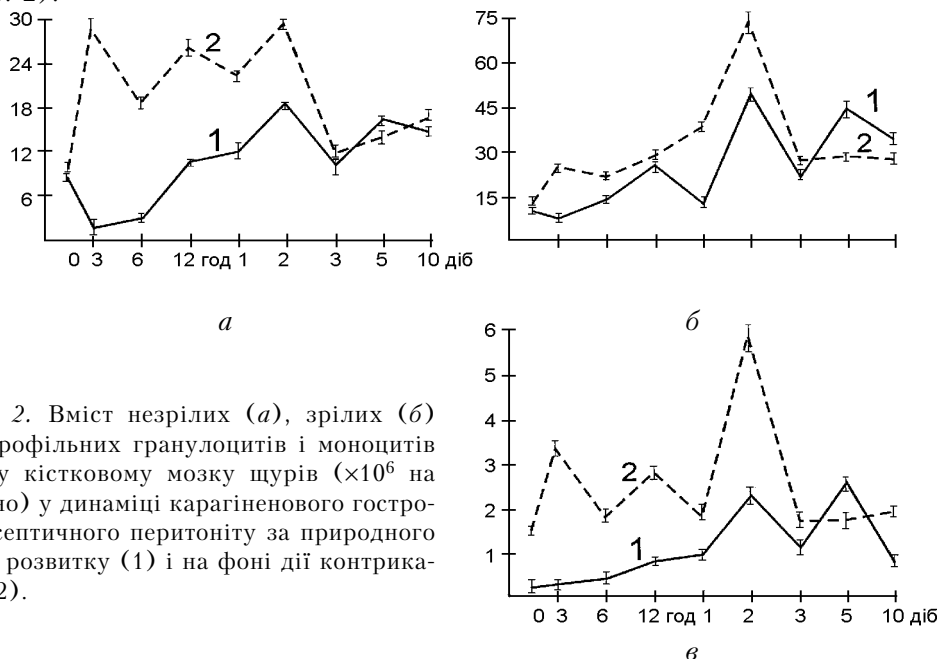


Рис. 2. Вміст незрілих (а), зрілих (б) нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів (в) у кістковому мозку щурів ($\times 10^6$ на стегно) у динаміці карагієнового гострого асептичного перитоніту за природного його розвитку (1) і на фоні дії контрикалу (2).

Спостерігався менше виражений лейкоцитоз. ЗКЛ крові сягала максимальних значень на 1-шу добу (вдвічі перевищуючи вихідне значення), на той час як за природного перебігу запалення — 3 год (в 3,2 раза). Нейтрофілія через 3 і 6 год була меншою, ніж за природного перебігу запалення, а моноцитоз (відносно інтактного контролю) розвивався лише на 2-гу добу замість 1-ї. У наступні строки дослідження вміст нейтрофілів і моноцитів у крові не відрізнявся від такого при звичайному розвитку запалення (рис. 3). Зіставлення цих значень з результатами дослідження кількості мієлокаріоцитів і лейкоцитів ексудату показує, що менша вираженість нейтрофілії і запізнення в розвитку моноцитозу зумовлені посиленням виходом лейкоцитів з крові до вогнища і, мабуть, зниженням — з кісткового мозку до крові. Відсутність різниці в інтенсивності лейкоцитозу в подальші строки, незважаючи на посилений інфлюкс лейкоцитів до вогнища при запаленні на фоні

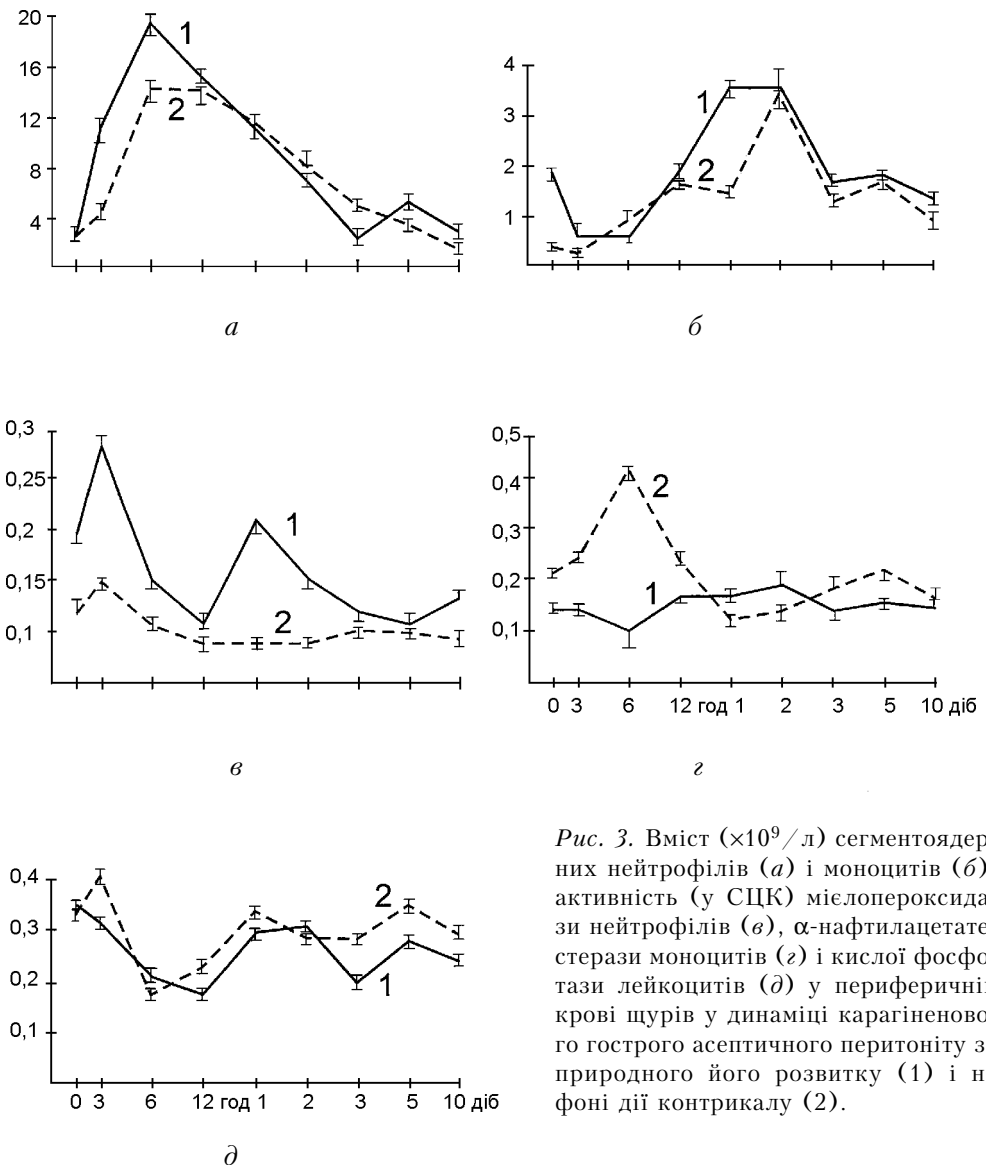


Рис. 3. Вміст ($\times 10^9$ /л) сегментоядерних нейтрофілів (а) і моноцитів (б), активність (у СЦК) мієлопероксидази нейтрофілів (в), α -нафтилацетатестерази моноцитів (г) і кислоти фосфатази лейкоцитів (д) у периферичній крові щурів у динаміці карагіненового гострого асептичного перитоніту за природного його розвитку (1) і на фоні дії контрикалу (2).

дії контрикалу, пов'язаний з більшою у цьому випадку активацією грануломоноцитопоезу.

Відзначалося також підвищення функціональної активності лейкоцитів крові. Активність МПО нейтрофілів була нижчою, ніж за природного перебігу запалення, до 2-ї доби. Активність α -НАЕ моноцитів перевищувала ту, що спостерігалася за природних умов запалення, через 3, 6, 12 год, 3 і 5 діб. Активність КФ у лейкоцитах була знижена в обох серіях, і її динаміка була досить подібною, однак при запаленні на фоні дії контрикалу активність була вищою через 3 і 12 год, 1, 3 і 10 діб (див. рис. 3).

Таким чином, при запаленні на фоні введення контрикалу спостерігалися підвищена акумуляція та стимуляція лейкоцитів вогнища, активація грануломоноцитопоезу і лейкоцитів крові і швидше вщухання інфільтрації. Результати свідчать про те, що за природних умов запалення лізосомальні протеїнази обмежують акумуляцію та стимуляцію лейкоцитів вогнища, активацію грануломоноцитопоезу та лейкоцитів крові і пролонгують запальну реакцію. Оскільки нейтрофілам та моноцитам належить ключова роль у розгортанні та вщуханні відповідно запальної реакції, а також показниками стану реакції системи крові і запалення в цілому є вираженість і термін закінчення лейкоцитарної інфільтрації, можна вважати, що лізосомальні протеїнази пригнічують захисно-приспосувальні реакції крові при запаленні.

Ефекти лізосомальних протеїназ можуть бути як пов'язаними з прямим впливом їх на лейкоцити та гемопоез, так і опосередкованими здатністю ферментів утворювати або розщеплювати різні хемоатрактанти. Так, з дослідів *in vitro* відомо, що залежно від концентрації, лізосомальні ферменти можуть посилювати або пригнічувати міграцію нейтрофілів [10]. Безпосередньо або через зворотну модуляцію функцій нейтрофілів вони видозмінюють активність макрофагів, лімфоцитів і фібробластів, а також очевидно, утворення макрофагальних колоніестимулюючих факторів, а також моно- і лімфокінів, фібробластичних факторів росту, які мають істотне значення у регуляції гемопоезу [1,6]. Протеїнази здатні не тільки утворювати, але й розщеплювати активні компоненти комплементу, які відносяться до основних хемоатрактантів [11]. А посилене утворення кінінів призводить, навпаки, до пригнічення хемотаксису поліморфонуклеарів і стимуляції макрофагів [8]. Лізосомальні ферменти можуть не лише активувати системи згортання крові і фібрінолізу, але і розщеплювати різні їх фактори і продукти, що є потужними хемоатрактантами [10].

N. A. Klimenko, A. N. Shevchenko

ROLE OF LYSOSOMAL PROTEINASES IN THE BLOOD REACTIONS DURING INFLAMMATION

On the model of carrageenan — induced acute aseptic peritonitis in rats it is shown that in inflammation on the background of contrykal administration the accumulation and stimulation of leukocytes of an inflammatory focus, and the activation of granulomonocytopoiesis and of blood leukocytes are increased, and infiltration becomes calm earlier. The results indicate that in the natural

development of inflammation lysosomal proteinases limit the accumulation and stimulation of leukocytes of an inflammatory focus, and activation of granulomonocytopenia and of blood leukocytes, and prolong the inflammatory reaction, i.e. they inhibit the protective adaptive reactions of blood in inflammation.

Kharlov Medical University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Дыгай А.М., Клименко Н.А.* Воспаление и гемопоэз. — Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. — 276 с.
2. *Клименко Н.А.* Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1993. — **116**, № 9. — С. 249-253.
3. *Клименко Н.А., Шевченко А.Н.* Роль эйкозаноидов в реакциях системы крови при воспалении // Доп. НАН України. — 1997. — № 10. — С. 169-173.
4. *Клименко М.О., Шевченко О.М.* Роль активних радикалів кисню в реакціях системи крові при запаленні // Фізіол. журн. — 1997. — **43**, № 5-6. — С. 70-75.
5. *Лабораторные методы исследования в клинике* / Под ред. В. В.Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
6. *Маянский Д.Н.* Хроническое воспаление. — М.: Медицина, 1991. — 272 с.
7. *Проценко В.А., Шпак С.И., Афанасьева В.В., Зак К.П.* Влияние контрикала на ультраструктуру нейтрофильных гранулоцитов периферической крови при экспериментальном перитоните // Патол. физиология. — 1984. — № 3. — С. 41-43.
8. *Baumgarten C.R.* Kallikrein-kinin system and the inflammatory reaction // Allergologie. — 1989. — **12**. — P. 248-254.
9. *Kruse-Jarres J.D., Kinzelmann T.* Pathobiochemistry and clinical role of granulocytes and their lysosomal neutral proteinases in inflammatory processes // Arztl. Lab. — 1986. — **32**. — P. 185-196.
10. *Olsson I., Venge P.* The role of the human neutrophil in the inflammatory reaction // Allergy. — 1980. — **35**. — P. 1-13.
11. *Sharma J.N., Mohsin S.S.* The role of chemical mediators in the pathogenesis of inflammation with emphasis on the kinin system // Exp. Pathol. — 1990. — **38**. — P. 73-96.

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

*Матеріал надійшов
до редакції 1.12.98*