

М. О. Клименко, О. М. Шевченко

Механізми регулюючого впливу лейкоцитів на еритропоез при запаленні

На моделі карагіненового острого асептичного перитонита у крыс с использованием ингибиторов ряда лейкоцитарных продуктов показано, что лизосомальные протеиназы угнетают активацию эритропоеза при воспалении, липоксигеназные производные — стимулируют, а в целом эйкозаноиды усиливают эритропоез еще больше. Активные формы кислорода способствуют развитию гиперплазии красного ростка костного мозга. Введение дексаметазона усиливает интенсификацию эритропоеза.

Вступ

У попередніх наших дослідженнях доведено, що запалення супроводжується активацією не лише грануломоноцитопоезу, але й еритропоезу [4]. Припускається також, що активація гемопоєзу при запаленні ініціюється гемопоетичними факторами, які вивільнюються стимульованими лейкоцитами вогнища та периферичної крові [6]. Встановлено, що в активації грануломоноцитопоезу, окрім класичних гемопоетичних речовин (різних типів колонієстимулюючих факторів), істотне значення має низка лейкоцитарних медіаторів запалення, які беруть участь у саморегуляції лейкоцитарної інфільтрації [8, 9]. Проте роль лейкоцитів у регуляції еритропоезу при запаленні не вивчена.

Мета цього дослідження — вивчення ролі основних лейкоцитарних медіаторів та впливу дексаметазону на еритропоез при запаленні.

Методика

Експеримент проведено на 378 щурах-самцях лінії Вістар масою 180—200 г. Гострий асептичний перитоніт моделювали внутрішньочеревним введенням 5 мг λ -карагінену (фірми «Sigma», США), розведеного в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [7]. У різні строки запалення тварин декапітували. Підраховували загальну кількість каріоцитів та їх склад у кістковому мозку стегна. Кістковий мозок отримували промиванням каналу кістки стегна 1 мл 3%-ї оцтової кислоти, підфарбованої генціанвіолетом.

Контрикал використовували як інгібітор лізосомальних протеїназ, який вводили в дозі 10 000 ОД/кг за 12 і 2 год до запалення, а далі двічі на добу [14]. Блокатором активних метаболітів кисню (АМК; O_2 та $OH\cdot$) і продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) був α -токоферолу ацетат, який в дозі 50 мг/кг вводили внутрішньом'язово раз на добу протягом експерименту, починаючи за 4 доби до дослідження, перед відтворенням запалення — за 30 хв [5, 12]. Як інгібітор циклооксигенази використовували індометацин, який вводили перорально за 1 год до початку експерименту, а

надалі — раз на добу в дозі 5 мг/кг. Розчинником був твін-80 [1], інгібітором ліпоксигенази — кверцетин, який вводили перорально за 1 год до початку досліду, далі — раз на добу в дозі 100 мг/кг [11, 13].

Дексаметазон вводили в дозі 500 мкг/кг внутрішньом'язово за 2,5 год до викликання запалення, а потім — щодобово протягом експерименту [2].

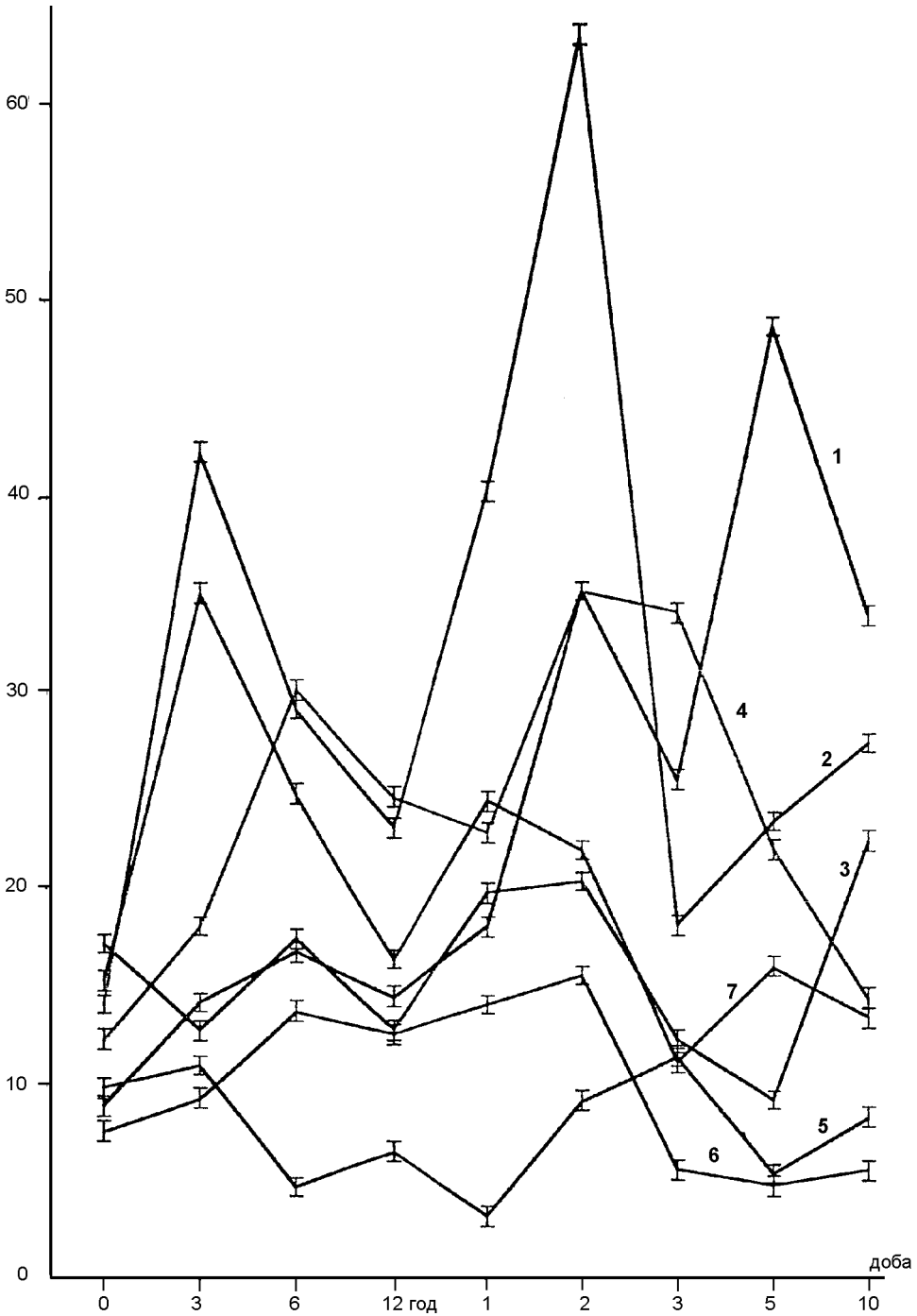
Результати та їх обговорення

За природного розвитку запалення (рисунок) кількість еритроїдних клітин у кістковому мозку була збільшеною з 3-ї години до 5-ї доби з максимумом на 5-ту добу (в 5, 5 рази порівняно з вихідним), який свідчить про розвиток гіперплазії червоного паростка кісткового мозку і підтверджує ту обставину, що зміни гемопоезу при цьому процесі багато в чому є стресорними [6].

Під впливом контрикалу спостерігалася більш помітна активація еритропоезу. Максимум еритрокаріоцитів відзначався на 2-гу добу замість 5-ї за природного розвитку запалення. На фоні токоферолу вміст еритроїдних клітин спочатку (до 1-ї доби) не відрізнявся від такого при звичайному перебігу запалення, а на 2–10-ту добу — був меншим. При введенні індометацину число еритроїдних клітин переважало в початкові строки запалення (до 1-ї доби) і відставало на 5-ту та 10-ту добу (в 2,2 і 2,3 рази). Застосування кверцетину призводило до зниження числа еритрокаріоцитів порівняно з вихідним значенням протягом усього досліду і, таким чином, воно було набагато меншим, ніж за природного розвитку запалення. При сумісній дії індометацину з кверцетином кількість еритроїдних елементів у ранні строки (до 12-ї години) не відрізнялася від тієї, що спостерігалася за звичайного перебігу запалення, а на 3-тю і 10-ту добу була ще меншою, ніж при застосуванні лише кверцетину. Застосування дексаметазону призводило до того, що число еритрокаріоцитів було більшим через 3, 6 год і 1 добу і меншим — через 2, 3, 5 і 10 діб. На 3-тю годину кількість еритроїдних клітин була більшою в 2,5 рази, на 5-ту і 10-ту добу — меншою в 3 і 2,5 рази відповідно порівняно з природним розвитком запалення, що, ймовірно, зумовлене більш раннім завершенням запальної реакції [10].

Отримані результати свідчать про те, що лізосомальні протеїнази та простаноїди пригнічують активацію еритропоезу при запаленні, а ліпоксигеназні продукти стимулюють еритропоез. Активні форми кисню сприяють розвитку гіперплазії червоного паростка кісткового мозку. Введення дексаметазону посилює інтенсифікацію еритропоезу. Зазначені ефекти досліджуваних медіаторів та дексаметазону є однонаправленими з впливом цих речовин на грануломоноцитопоез [8–10].

Вплив указаних медіаторів і дексаметазону на еритропоез може бути безпосереднім або ж опосередкованим їх участю у регуляції системи еритропоетину — найважливішої дистантної системи регуляції еритропоезу, — а також функцій лейкоцитів. Активовані моноцити-макрофаги можуть бути джерелом еритропоетичної активності [6]. У свою чергу, дані медіатори можуть виступати як власне хемоатрактанти, модулятори інфільтрації і, таким чином, взаємопов'язаних з нею реакцій системи крові — внаслідок утворення та розщеплення інших хемоатрактантів, регуляції адгезії,



Вміст еритроїдних клітин у кістковому мозку щурів ($\times 10^6$ на стегно) у динаміці карагієнового гострого асептичного перитоніту за природного його розвитку (1), на фоні дії контрикалу (2), токоферолу (3), індометацину (4), кверцетину (5), індометацину з кверцетином (6), дексаметазону (7).

проникності судин тощо. Так, залежно від концентрації лізосомальні ферменти можуть посилювати або пригнічувати міграцію нейтрофілів [22]. Безпосередньо або через зворотну модуляцію функцій нейтрофілів вони видозмінюють активність макрофагів, лімфоцитів і фібробластів, у тому числі, мабуть, утворення різних гемопоетичних факторів. Протеїнази здатні не тільки утворювати, але й розщеплювати активні компоненти комплекменту, які відносяться до основних хемоатрактантів [24]. Посилене утворення кінінів призводить, навпаки, до пригнічення хемотаксису поліморфонуклеарів і стимуляції макрофагів [15]. Лізосомальні ферменти можуть не лише активувати системи згортання крові та фібринолізу, але і переварювати різні їх фактори та продукти, що є потужними хемоатрактантами [22].

АМК і ПОЛ здатні безпосередньо стимулювати нейтрофіли та пригнічувати моноцити [16, 18]. АМК не тільки вивільнюють, а й інактивують інші медіатори, наприклад, лізосомальні гідролази [16, 19]. Вважається, що особливо АМК мають значення у регуляції утворення метаболітів арахідонової кислоти (МАК) як ініціюючи, так і модулюючи їх каскад [16, 18, 19]. МАК же, особливо ліпоксигеназні, є сильними хемоатрактантами [25].

Простаноїди пригнічують активацію еритропоезу, ліпоксигеназні похідні — стимулюють, однак у сукупності ейкозанойди посилюють еритропоез ще більше. Відомо, що екзогенні циклооксигеназні похідні, в тому числі ПГЕ₂, що є їх основним представником у вогнищі запалення, стимулюють лейкоцити [23, 25, 26]. Разом з тим за умов пригнічення циклооксигенази перетворення арахідонової кислоти, мабуть, може компенсаторно направлятися ліпоксигеназним шляхом [6], і лейкотриєни та гідроксиейкозатетраєнові кислоти, як більш потужні хемоатрактанти [25], можуть забезпечувати посилену активацію лейкоцитів при блокаді циклооксигенази [8]. МАК пов'язані з іншими медіаторами — АМК, окислом азоту (NO), кінінами, похідними комплекменту [6, 21].

Як відомо, глюкокортикоїди також впливають на функції лейкоцитів, зокрема, при введенні ззовні викликають лейкоцитоз, посилюючи вихід лейкоцитів із кісткового мозку до крові і зменшуючи — з крові до тканин [3]. При запаленні дексаметазон, навпаки, посилює акумуляцію лейкоцитів у вогнищі, що призводить до менш вираженого лейкоцитозу [10]. Виявлено, що глюкокортикоїди особливого значення набувають у регуляції гемопоезу при необхідності адаптивної перебудови кровотворення у вигляді гіперплазії кісткового мозку, яка характерна і для запалення [6]. При цьому вони впливають на гемопоез опосередковано через Т-лімфоцити, зокрема, через посилену міграцію Т-регуляторів гемопоезу до кісткового мозку [6]. Одночасно глюкокортикоїди мають широкий спектр протизапальної дії, гальмуючи вивільнення медіаторів з різних клітинних джерел — лейкоцитів, тучних клітин, тромбоцитів, ендотеліальних клітин, резидентних макрофагів тощо. Останнім часом встановлено, що одним з ефектів дексаметазону є пригнічення індукованої синтетази NO [17] і, таким чином, продукції NO, основним джерелом якого при запаленні служать стимульовані моноцити-макрофаги і якому надається важливе значення як медіатору та модулятору запалення [20]. Припускається, що потужний протизапальний ефект

глюкокортикоїдів саме й зумовлений їх пригнічуючою дією на макрофагальну NO-синтазу.

N. A. Klimenko, A. N. Shevchenko

MECHANISMS OF ERYTHROPOIESIS REGULATION BY LEUKOCYTES IN INFLAMMATION

On the model of carrageenan – induced acute aseptic peritonitis in rats with use of the inhibitors of some leukocytic products it is shown that lysosomal proteinases inhibit erythropoiesis activation in inflammation. Lipoxygenase metabolites stimulate erythropoiesis. Eicosanoids as a whole stimulate erythropoiesis still more. Reactive oxygen species promote the development of erythron hyperplasia. Dexamethasone administration increases the erythropoiesis intensification. .

Kharkov State Medical University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березнякова А.И., Кузнецова В.Н. К механизму антигипоксического действия индометацина, вольтарена, ибупрофена // Фармакология и токсикология. — 1988. — **51**, №5. — С. 62-65.
2. Вермеш И., Рыженков В.Е. Функциональное состояние гипоталамико-надпочечниковой системы у крыс с деафферентированным гипоталамусом: действие дексаметазона и ниаламида // Пробл. эндокринологии. — 1974. — **20**, № 3. — С. 67-70.
3. Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б. Клетки костного мозга и периферической крови. — М.: Медицина, 1985. — 288 с.
4. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Клименко Н.А. и др. О реакции эритрона и ее механизмах при воспалении // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1995. — **120**, №10. — С. 382-384.
5. Губский И.Ю., Болдескул А.Е., Примак Р.Г., Задорина О.В. Влияние α -токоферола и инола на физическую структуру мембран микросом печени крыс в условиях антиоксидантной недостаточности // Укр. биохим. журн. — 1989. — **61**, № 4. — С.94-99.
6. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. — Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1992. — 276 с.
7. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1993. — **116**, № 9. — С. 249-253.
8. Клименко Н.А., Шевченко А.Н. Роль эйкозаноидов в реакциях системы крови при воспалении // Доп. НАН України. — 1997. — №10. — С. 169-173.
9. 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.
10. Клименко М.О., Шевченко О.М. Вплив дексаметазону на реакції системи крові при запаленні // Фізіол. журн. — 1998. — **44**, № 5-6. — С. 73-79.
11. Колчин Ю.Н., Попович Л.Ф., Грабовский Л.А. и др. Влияние блокатора 5-липоксигеназы кверцетина на функциональные и морфологические проявления поражения миокарда при ишемии и реперфузии // Кардиология. — 1990. — **30**, № 3. — С. 72-75.
12. Левшина И.П., Курочкина Е.В., Обидин А.Б., Гуляева Н.В. α -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.
13. Лук'яничук В.Д., Висоцький І.Ю. Роль лейкотриєнів у патогенезі епіхлоргідринової інтоксикації та корекція кверцетином виниклих змін. — В кн.: Фундаментальні ме-

- ханізми розвитку патологічних процесів : Тез. доп. конф. патофізіол. України. — Дніпропетровськ, 1992. — С. 71-72.
14. *Проценко В.А., Шпак С.И., Афанасьєва В.В., Зак К.П.* Влияние контрикала на ультраструктуру нейтрофильных гранулоцитов крови при экспериментальном перитоните // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1984. — № 3. — С. 41-43.
 15. *Baumgarten C.R.* Kallikrein-kinin system and the inflammatory reaction // *Allergologie.* — 1989. — **12.** — P. 248-254.
 16. *Blake D.R., Allen R.E., Lunec J.* Free radicals in biological system — A review orientated to inflammatory processes // *Brit. Med. Bull.* — 1987. — **43.** — P. 371-385.
 17. *Chabrier P.-E., Demerle-Pallardy C., Braquet P.* Potential physiological and pathophysiological roles of nitric oxide in the brain // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1992. — № 4. — P. 31-33.
 18. *Hertz F., Cloarec A.* Pharmacology of free radicals, recent views on their relation to inflammation mechanism // *Life Sci.* 1984. — **34.** — P. 713-720.
 19. *Hirschelmann R.* Oxygen free radicals and inflammation // *Wiss. Beitr. M.-Luther-Univ. Halle-Wittenberg.* — 1987. — № 100. — P. 82-94.
 20. *Moncada S., Higgs A.* The L-arginine nitric oxide pathway, cellular transduction and immunological roles // *New Engl. J. Med.* — 1993. — **329.** — P. 2002-2012.
 21. *Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs G.A.* Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology // *Pharmacol. Rev.* — 1991. — **43.** — P. 109-142.
 22. *Olsson I., Venge P.* The role of the human neutrophil in the inflammatory reaction // *Allergy.* — 1980. — **35.** — P. 1-13.
 23. *Salmon J.A., Higgs G.A.* Prostaglandins and leukotrienes as inflammatory mediators // *Brit. Med. Bull.* — 1987. — **43,** № 2. — P. 285-296.
 24. *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.
 25. *Vane J.R.* Antiinflammatory drugs and the many mediators of inflammation // *Int. J. Tissue React.* — 1987. — **9.** — P. 1-4.
 26. *Williams K.J., Higgs G.A.* Eicosanoids and inflammation // *J. Pathol.* — 1988. — **156.** — P. 101-110.

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

*Матеріал надійшов
до редакції 10.12.98*