



УДК: 616-002-036.12-085.37-092:616.112:58.084

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ВТОРИЧНО ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ НАТРИЯ НУКЛЕИНАТА

А.Н. ШЕВЧЕНКО¹
Л.И. КОВАЛЕНКО¹
Е.Н. КРИКУН²

¹⁾ Харьковский национальный
медицинский университет

²⁾ Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: shevchenko_an@list.ru

Исследовали функциональную активность лейкоцитов периферической крови (по активности маркерных ферментов в лейкоцитах) в динамике вторично хронического воспаления, вызванного подкожным введением карагинена в область бедра у крыс, на фоне применения натрия нуклеината. Показано, что применение натрия нуклеината приводит к уменьшению хронизации воспаления, что свидетельствует о возможности использования препарата для профилактики хронического воспаления.

Ключевые слова: вторично хроническое воспаление, функциональная активность лейкоцитов, натрия нуклеинат.

Воспаление лежит в основе большинства существующих болезней человека и, соответственно, является наиболее распространенной формой патологии, основным типическим патологическим процессом. В то время как острое воспаление является, прежде всего, важнейшей защитно-приспособительной реакцией, в форме патологии, хроническое воспаление отличается утратой защитно-приспособительного значения и превращением в самостоятельный патогенный фактор. В связи с этим лечение хронического воспаления чрезвычайно затруднено. Соответственно, важнейшим направлением в исследованиях по воспалению является выяснение механизмов хронизации процесса и разработка принципов и методов предупреждения и лечения хронического воспаления. Поскольку основной эффекторной системой воспаления является система крови, хронизация воспаления, прежде всего, связана с недостаточностью системы крови, развивающейся при персистенции флогогена [1]. Отсюда вытекает принципиальная возможность профилактики и лечения хронического воспаления путем стимуляции гемопоэза, увеличения продукции функционально активных лейкоцитов. Показан положительный эффект в этом отношении рекомбинантного человеческого Г-КСФ (нейпогена) [2]. Одним из перспективных средств в этом направлении может быть натрия нуклеинат. Он относится к иммуностимуляторам и обладает широким спектром биологической активности, в том числе стимулирует деятельность костного мозга, активизирует лейкопоэз, вызывает лейкоцитарную реакцию. Имеются данные об эффективности препарата в комплексной терапии ряда хронических воспалительных заболеваний [3]. В то же время возможность применения натрия нуклеината для профилактики хронического воспаления не изучалась.

Цель исследования. Оценка влияния препарата натрия нуклеинат на функциональную активность лейкоцитов периферической крови при вторично хроническом воспалении в эксперименте.

Методы. Опыты поставлены на 132 крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Вторично хроническое воспаление вызывали подкожным введением в область бедра 10 мг λ-карагинена («Sigma», США) в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида [4]. Натрия нуклеинат вводили подкожно в область спины животного в дозе 12 мг в 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида ежедневно в течение всего эксперимента [3, 5]. Контролем для естественного течения воспаления были интактные крысы, для воспаления на фоне применения натрия нуклеината – крысы, которым вводили препарат без последующего вызывания воспаления. Животных забивали декапитацией под наркозом на 6-й час, 1-е, 2-е, 3-е, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки воспаления. О функциональном состоянии лейкоцитов крови судили на основании активности их маркерных ферментов в клетках. Маркерами функциональной активности нейтрофилов были миелопероксидаза (МПО) /К.Ф. 11.1.7/ и кислая фосфатаза (КФ) /К.Ф. 3.1.3.2/, моноцитов – α-нафтилацетат-эстераза (α-НАЭ), лимфоцитов – КФ и α-НАЭ, которые определяют цитохимически по методам Грехема-Кнолля, Леффлера и Берстона [6]. Статистическую обработку результатов проводили по критерию Стьюдента.

Результаты. При естественном течении воспаления активность МПО в нейтрофилах на 6-й час достоверно снижается по сравнению с контролем – в 1,17 раза, $p < 0,01$ (рис.). На 1-е



сутки она восстанавливается до исходной, соответственно, достоверно возрастая по сравнению с 6-м часом ($p < 0,001$). На 2-е сутки активность МПО вновь достоверно снижается как по сравнению с контролем так и 1-ми сутками (соответственно, в 1,2 и 1,22 раза, $p < 0,001$). На 3-и и 5-е сутки она постепенно восстанавливается, оставаясь достоверно ниже контроля ($p < 0,01$ и $p < 0,05$, соответственно), а на 7-е сутки не отличается от контроля. На 10-е и 14-е сутки активность фермента опять постепенно снижается по сравнению с контролем ($p < 0,05$ и $p < 0,01$, соответственно) с минимумом на 14-е сутки (в 1,26 раза ниже контроля), а на 21-е и 28-е сутки постепенно восстанавливается, так что на 28-е сутки не отличается от контроля. Таким образом, активность МПО в нейтрофилах в динамике воспаления изменяется волнообразно, снижаясь с минимумами на 6-й час, 2-е и 14-е сутки и восстанавливаясь до исходного уровня на 1-е, 7-е и 28-е сутки. Исходя из общих закономерностей развития и течения воспаления [1, 7], снижение активности МПО в нейтрофилах на 6-й час объясняется дегрануляцией активированных нейтрофилов крови, восстановление ее на 1-е сутки – усиленным притоком новых нейтрофилов из костного мозга в кровь, что, в свою очередь, связано с активацией гемопоэза. Повторное уменьшение активности фермента на 2-е сутки обусловлено ослаблением нейтрофильной реакции, переходом к моноцитарно-макрофагальной реакции, а повторное восстановление на 3-7-е сутки – развитием гиперплазии костного мозга. Дальнейшее повторное снижение активности МПО на 10-е – 14-е сутки обусловлено повторным вовлечением нейтрофилов в процесс, в связи с хронизацией воспаления, а постепенное восстановление на 21-е – 28-е сутки – повторным усилением гемопоэза, отражающим хронизацию воспаления. При воспалении на фоне применения натрия нуклеината динамика активности МПО в нейтрофилах весьма сходна с таковой при естественном течении процесса, за исключением периода после 10-х суток, изменения изучаемых параметров в который свидетельствуют о хронизации воспаления. При этом на 21-е сутки активность МПО в нейтрофилах достоверно ниже (в 1,11 раза, $p < 0,05$), что свидетельствует о меньшем вовлечении нейтрофилов в это время, то есть о меньшей хронизации воспаления. Активность КФ в нейтрофилах при естественном течении воспаления на 6-й час и 1-е сутки постепенно снижается по сравнению с контролем и на 1-е сутки оказывается достоверно ниже контроля (в 1,76 раза, $p < 0,05$). На 2-е сутки ее активность несколько восстанавливается по сравнению с 1-ми сутками, однако остается достоверно меньше контроля (в 1,57 раза, $p < 0,05$), а на 3-и сутки, снижается еще больше (в 1,93 раза, $p < 0,01$). На 5-е сутки активность КФ вновь несколько восстанавливается, так что достоверно не отличается от контроля, а на 7-е сутки она опять достоверно ниже контроля (в 1,5 раза, $p < 0,05$). На 10-е сутки активность фермента достоверно увеличивается по сравнению с 7-ми сутками ($p < 0,001$) и достоверно не отличается от контроля. В последующие сроки исследования (на 14-е – 28-е сутки) достоверных отличий активности КФ от контроля не наблюдается. Таким образом, со стороны активности КФ не отмечается таких волнообразных изменений, как со стороны МПО. Практически с 1-х по 7-е сутки активность КФ остается достоверно сниженной по сравнению с исходной. Это, по-видимому, объясняется тем, что в то время как активность МПО больше отражает приток новых нейтрофилов из костного мозга в кровь, активность КФ больше характеризует дегрануляцию нейтрофилов [1]. Она показывает, что дегрануляция нейтрофилов особо выражена в период от начала воспаления до 7-х суток. При воспалении на фоне применения натрия нуклеината динамика активности КФ в нейтрофилах сходна с таковой при естественном течении процесса, за исключением 3-х – 7-х и 28-х суток. При этом активность фермента значительно ниже на 6-й час (в 1,54 раза, $p < 0,001$), 5-е сутки (в 1,54 раза, $p < 0,01$) и выше на 7-е сутки (в 1,58 раза, $p < 0,01$). Более низкая активность КФ на 6-й час и 5-е сутки свидетельствует о более выраженной дегрануляции в эти сроки, а более высокая активность фермента на 7-е сутки – о меньшей дегрануляции. Это показывает, что при воспалении на фоне применения натрия нуклеината активация нейтрофилов вначале больше, чем при естественном течении процесса, а затем меньше; большее вовлечение нейтрофилов в начальный, острый, период вторично хронического воспаления приводит к меньшей хронизации процесса в дальнейшем. Активность α -НАЭ в моноцитах при естественном течении воспаления на 6-й час не отличаются от исходной, а с 1-х суток и до конца исследования наблюдается устойчивая тенденция к повышению активности фермента, с первым пиком на 2-е сутки (1,26 раза превышающим контроль), вторым, достоверным пиком на 7-е сутки (в 1,36 раза, $p < 0,05$) и третьим пиком (максимальным) на 21-е сутки (1,42 раза). Первый пик соответствует времени моноцитарно-макрофагальной реакции при остром воспалении, второй пик – гиперплазии костного мозга. Происходит усиленное поступление моноцитов из костного мозга в кровь и далее в очаг. Третий пик отражает повторную моноцитарную реакцию, характерную для хронического воспаления, и свидетельствует о хронизации воспаления. При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением процесса активность α -НАЭ в моноцитах на протяжении всего исследования достоверно не отличается, но отмечаются тенденции к превышению показателей в период с 6-го часа по 5-е сутки и на 14-е сут-



ки. При этом динамика изменений активности фермента в обоих случаях является весьма сходной. Активность КФ в лимфоцитах при естественном течении воспаления на 6-й час достоверно не отличается от исходной, а на 1-е сутки – достоверно снижается как по сравнению с контролем, так и с 6-м часом (соответственно, в 1,54 раза, $p < 0,01$, и 1,94 раза, $p < 0,001$). На 2-е сутки она достоверно возрастает по сравнению с 1-ми сутками ($p < 0,001$), так что статистически не отличается от контроля. На 3-и, 5-е и 7-е сутки она также не отличается от контроля, хотя и имеет тенденцию к снижению на 7-е сутки (в 1,3 раза). На 10-е сутки активность фермента достоверно повышается как по сравнению с 7-ми сутками (в 2 раза, $p < 0,001$), так и с контролем (в 1,54 раза, $p < 0,05$), и остается больше контроля на 14-е сутки (в 1,51 раза, $p < 0,01$). На 21-е и 28-е сутки она вновь не отличается достоверно от контроля. Таким образом, активность КФ в лимфоцитах снижается на 1-е сутки воспаления, восстанавливается на 2-е сутки, практически не отличается от исходной по 7-е сутки и повышается на 10-е – 14-е сутки. Как известно, зрелые лимфоциты, в отличие от нейтрофилов, способны к дальнейшему синтезу ферментов. Снижение активности КФ в лимфоцитах на 1-е сутки, по-видимому, отражает преобладание дегрануляции клеток над синтетической активностью и убыль лимфоцитов в связи с их миграцией в костный мозг (хоминг, для инициирования активации гемопоэза), что характерно для начальных сроков острого воспаления. Повышение активности КФ на 10-е – 14-е сутки, вероятно, обусловлено активацией лимфоцитов, преобладанием синтеза над дегрануляцией, притоком новых клеток в связи с хронизацией воспаления [1]. Количество лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, в динамике воспаления достоверно не изменяется. Наблюдаются тенденции к его снижению на 6-й час (в 1,24 раза) и к повышению на 1-е сутки (1,3 раза) с постепенным возвращением к контролю на 5-е сутки, и к увеличению на 7-е – 28-е сутки (в 1,18 – 1,36 раза). Как видно, тенденции в изменении количества лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, по времени проявления в динамике воспаления близки к закономерностям изменений активности КФ в лимфоцитах. При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением воспаления активность КФ в лимфоцитах достоверно выше на 7-е сутки (в 1,42 раза, $p < 0,05$) и ниже – на 10-е сутки (в 1,41 раза, $p < 0,05$). Это объясняется тем, что при естественном течении воспаления, активность КФ на 7-е сутки имеет тенденцию к снижению по сравнению с контролем, а на 10-е сутки достоверно повышена относительно контроля. При воспалении на фоне применения натрия нуклеината активность фермента в эти сроки не отличается от контроля. Таким образом, в период до 5-х суток динамика активности КФ в лимфоцитах в обеих сериях исследования практически не отличается. Отличия наблюдаются на 7-е – 10-е сутки, то есть в период хронизации воспаления. При этом происходят выраженные колебания КФ именно при естественном течении процесса. При воспалении на фоне действия натрия нуклеината показатели в это время находятся на уровне контроля. Достоверное повышение активности КФ в этом случае наблюдается намного позже (на 21-е сутки) и выражено меньше. Это свидетельствует о меньшей и более поздней активации лимфоцитов – эффекторов хронического воспаления, то есть о том, что применение натрия нуклеината через снижение активации лимфоцитов заметно препятствует хронизации воспаления. Количество лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, во все сроки исследования несколько превышает таковое при естественном течении воспаления, а на 6-й час – значительно (в 1,7 раза, $p < 0,05$). Последнее связано с тем, что при естественном течении воспаления наблюдается тенденция к снижению количества лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, по сравнению с контролем, а при воспалении на фоне действия натрия нуклеината – к повышению. Полученные данные свидетельствуют о том, что вовлечение лимфоцитов в предупреждение хронизации воспаления под влиянием натрия нуклеината происходит с самого начала воспалительного процесса и в начальные сроки процесса это выражается не в угнетении, а в активации лимфоцитов. За исключением 6-го часа, динамика изменений количества лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, в обеих сериях исследования является очень сходной. В целом обращает на себя внимание тот факт, что сходство динамики изменений активности ферментов в обеих сериях исследования более характерно для начального, острого, периода воспаления и меньше для более поздних сроков, что свидетельствует о хронизации воспаления. Таким образом, при воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением процесса функциональная активность лейкоцитов в ранние сроки вторично хронического воспаления, соответствующие его острому периоду, выше, а в более поздние сроки – ниже. Усиленная против естественного течения воспаления функциональная активность лейкоцитов обеспечивает более эффективную элиминацию флогогена, в связи с чем, хронизация воспаления уменьшается, что проявляется в снижении дальнейшего вовлечения лейкоцитов в процесс. Применение натрия нуклеината больше сказывается на функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов и меньше – моноцитов. Повышение функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов во многом связано с активацией лейкопоэза, миграции лимфоцитов и поступлением в кровь новых лейкоцитов, что согласуется с известными эффектами пре-



парата [3]. Вместе с тем, применительно к моноцитам известно, что натрия нуклеинат стимулирует фагоцитарную активность макрофагов [3].

Выводы. По данным функциональной активности лейкоцитов периферической крови в динамике вторично хронического воспаления, применение натрия нуклеината приводит к уменьшению хронизации процесса, что свидетельствует о возможности использования препарата для профилактики хронического воспаления.

Литература

1. Клименко Н.А., Шевченко А.Н. Гематологические механизмы хронизации воспаления. – Харьков, 2010. – 88 с.
2. Одинец Ю.В., Клименко Н.А., Шевченко А.Н. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор в комплексной терапии воспалительных заболеваний инфекционного генеза, не сопровождающихся нейтропенией // Врачебная практика (Харьков). – 2004. – № 5. – С. 32-42.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства (16-е изд.) – М.: Медицина, 2010. – 1216 с.
4. Клименко Н.А., Татарко С.В., Шевченко А.Н., Губина-Вакулик Г.И. Обоснование модели хронизирующегося (вторично хронического) воспаления // Экспериментальная и клиническая медицина (Харьков). – 2007. – № 2. – 12-17.
5. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности // Журнал АМН СССР. – 1979. – Т. 247, №6. – С. 1513-1516
6. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. – 276 с.

FUNCTIONAL ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES IN SECONDARY CHRONIC INFLAMMATION UNDER SODIUM NUCLEINATE APPLICATION

A.N. SHEVCHENKO¹
L.I. KOVALENKO¹
E.N. KRIKUN²

¹⁾ *Kharkov National Medical University*

²⁾ *Belgorod National Research University*

e-mail: shevchenko_an@list.ru

It is investigated of functional activity of peripheral blood leukocytes (by activity of marker enzymes in leukocytes) in dynamics of secondary chronic inflammation, caused by subcutaneous injection of carrageenan in thigh area of rats, under sodium nucleinate application. It is shown, that sodium nucleinate application leads to reducing of inflammation chronization, which indicates the possibility of the medicine usage for the prevention of chronic inflammation

Keywords: secondary chronic inflammation, functional activity of leukocytes, sodium nucleinate.