

© Татарко С. В.

УДК 612. 017. 1:616-002-092. 9-07:616. 15-076. 1:612. 112

Татарко С. В.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПО ТЕЧЕНИЮ И ЭТИОЛОГИИ ВИДАХ ВОСПАЛЕНИЯ

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

Данная работа является фрагментом в рамках научных направлений Харьковского национального медицинского университета МЗ Украины «Изучение общих закономерностей патологических процессов и разработка методов их коррекции» и кафедры патологической физиологии – общая патология воспаления. Комплексные темы кафедры: «Межклеточные взаимодействия и их механизмы в патогенезе воспаления» (№ государственной регистрации 0103U004546, 2003-2005 гг.), «Гематологические механизмы хронизации воспаления» (№ государственной регистрации 0106U001639, 2006-2008 гг.).

Вступление. Возникновение, развитие, течение и исход воспаления, как и любого другого патологического процесса, определяются, прежде всего, реактивностью организма, главным образом, иммунологической [1, 10, 17]. Несмотря на огромное количество исследований, посвященных изучению иммунных реакций при воспалительных заболеваниях, в общепатологическом отношении иммунологическая реактивность при воспалении охарактеризована недостаточно. Особый практический интерес представляют иммунологические механизмы перехода острого воспаления в хроническое (вторично хроническое воспаление), первично хронического воспаления, в том числе иммунного [2, 11, 12]. Вместе с тем отсутствуют специальные комплексные сравнительные исследования иммунологической реактивности при разном по течению и этиологии воспалении.

Цель исследования – фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови при различных по течению и этиологии видах воспаления у крыс.

Объект и методы исследования. Опыты поставлены на 246 крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страссбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Острое инфекционное воспаление вызывали введением в область бедра суточной культуры

Staphylococcus aureus, штамм ATCC-25923, содержащей 2 млрд. микробных тел в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [13]. Вторично хроническое воспаление вызывали подкожным введением в область бедра 5 мг λ-карагинена (“Sigma”, США) в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [3]. Первично хроническое неиммунное (гранулематозное) воспаление вызывали введением в область бедра сефадекса А-25 в дозе 1 мг в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [16]. Первично хроническое иммунное воспаление типа адьювантного артрита вызывали субплантарным введением полного адьюванта Фрейнда в дозе 0, 1 мл [14].

Начиная с 6-го ч и по 28-е сут воспаления исследовали фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ) и индекс активности нейтрофилов (ИАН) [7]. При температуре 37°C инкубировали равные количества крови и взвеси эпидермального условно-патогенного стафилококка штамма 37В, содержащей 1 млрд. микробных тел в 1 мл. Через 30 и 60 мин от начала инкубации готовили мазки, которые окрашивали по Романовскому-Гимзе [9]. Через 30 мин определяли ФИ (процент клеток, вступивших в фагоцитоз, от общего их числа) и ФЧ (ФЧ30) [среднее число бактерий, находящихся внутриклеточно (частное от деления общего числа поглощенных бактерий на число клеток, вступивших в фагоцитоз)]. Через 60 мин также определяли ФЧ (ФЧ60). ИАН (по Меньшикову [9] – коэффициент фагоцитарного числа – КФЧ) определяли как частное от деления ФЧ30 на ФЧ60.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием компьютерной программы Stadia – 6. 0 и *t*-критерия Стьюдента на ПЭВМ «Pentium-4», а также с помощью пакетов прикладных программ для ПЭВМ (S-Plus 2000), «Excel» [8].

Результаты исследований и их обсуждение. Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови при разном по течению и этиологии воспалении показало, что ФИ при остром воспалении был повышен во все сроки исследования, кроме 3-х сут, причем достоверно – на 6-й ч–2-е сут и 5-е–7-е сут с пиком на 2-е сут (**рис. 1**). В то же время, при вторично и первично хроническом воспалении в начальные сроки отмечалось снижение ФИ, во втором случае – достоверно на 1-е сут,

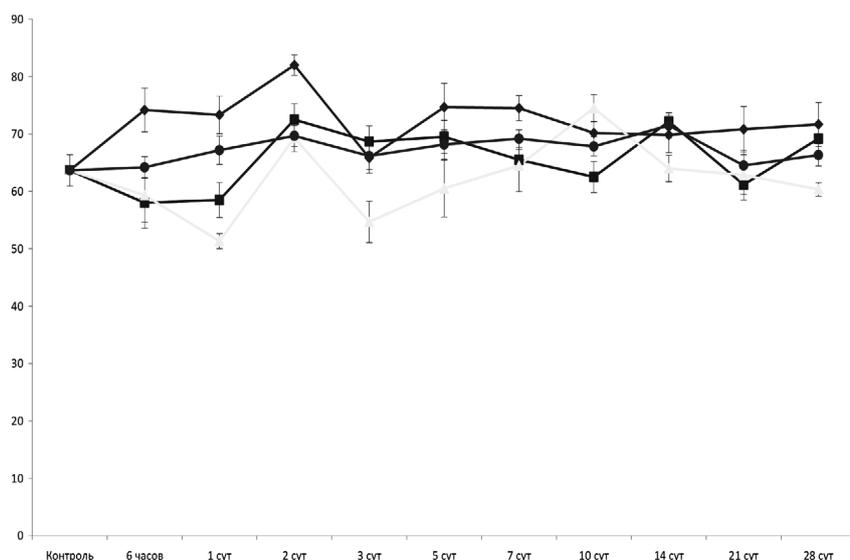


Рис. 1. ФИ (в %) в периферической крови в динамике острого инфекционного (●), вторично хронического (■), первично хронического неиммунного (▲), первично хронического иммунного воспаления (◆).

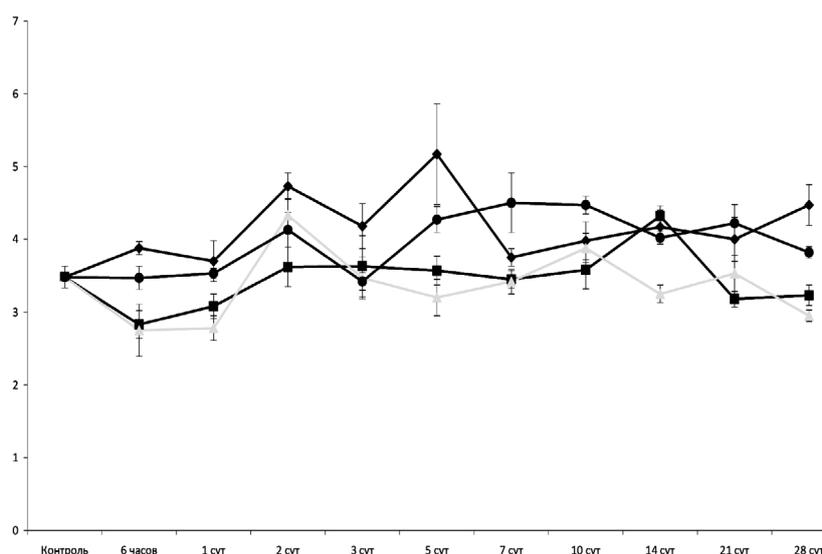


Рис. 2. ФЧ 30 (в %) в периферической крови в динамике острого инфекционного (●), вторично хронического (■), первично хронического неиммунного (▲), первично хронического иммунного воспаления (◆).

а затем повышение – в первом случае со 2-х до 5-х сут, на 14-е и 28-е сут с достоверными пиками на 2-е и 14-е сут, а во втором – на 2-е и – достоверно – на 10-е сут.

При хроническом иммунном воспалении некоторое повышение ФИ отмечалось на 1-е–2-е сут и в период с 5-х до 14-х сут с достоверным пиком на 14-е сут.

Исследование показателей ФЧ30 и ФЧ60 показало их аналогичную динамику с ФИ. ФЧ30 при остром воспалении был несколько повышен во все сроки исследования, достоверно – на 6-й ч, 2-е, 5-е, 14-е и 28-е сут, ФЧ60 – на 2-е, 5-е и 28-е сут (рис. 2, 3). При вторично хроническом воспалении эти

показатели были достоверно снижены на 6-й ч, а ФЧ60 и на 21-е сут, а повышены – на 14-е сут, тогда как при первично хроническом воспалении достоверное снижение отмечалось позднее – на 1-е сут, а повышение – значительно раньше – на 2-е сут.

В то же время при хроническом иммунном воспалении ФЧ30 достоверно возросло на 2-е сут и с 5-х до 21-х сут, а ФЧ60 – в период с 5-х до 10-х сут. Следует также отметить, что на 7-е и 10-е сут значения ФЧ30 и ФЧ60 при иммунном воспалении значительно выше, чем при остром, а в другие сроки картина была противоположной.

В целом в динамике показатели ФИ, ФЧ30 и ФЧ60 в зависимости от вида воспаления имели такую зависимость: острое > первично хроническое иммунное > вторично хроническое > первично хроническое неиммунное.

Что же касается ИАН, то при остром воспалении он был повышен с 6-го ч и до 14-х сут, причем достоверно – на 2-е и 7-е сут с максимумом на 2-е, и возвращался к исходному на 21-е сут (рис. 4); при вторично хроническом – колебался волнообразно и близко к исходному, достоверно снижаясь на 3-и сут и несколько повышаясь на 21-е и 28-е сут; при первично хроническом – практически не изменялся во все сроки исследования. Следует отметить, что при хроническом иммунном воспалении ИАН был достоверно повышен на 6-й ч и затем имел незначительный подъем на 14-е сут.

Таим образом, фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови повышена при остром воспалении на протяжении всего периода исследования. По мере хронизации воспаления имеет место запаздывание динамики фагоцитарной активности. При дальнейшей хронизации воспаления нарастает снижение фагоцитарной активности нейтрофилов.

В то же время при хроническом иммунном воспалении, по сравнению с неиммунным, фагоцитарная активность нейтрофилов повышается (табл.). Обнаруживается “разобщение” фагоцитарной

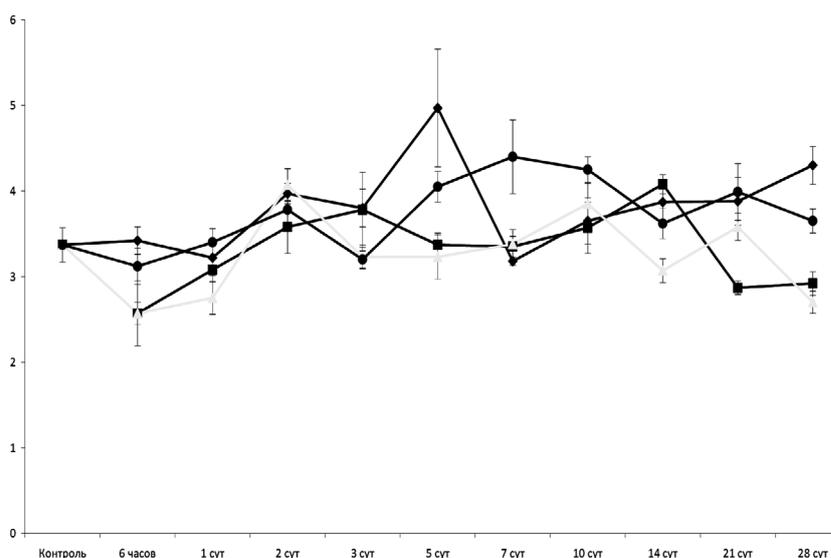


Рис. 3. ФЧ 60 (в %) в периферической крови в динамике острого инфекционного (●), вторично хронического (■), первично хронического неиммунного (▲), первично хронического иммунного воспаления (◆).

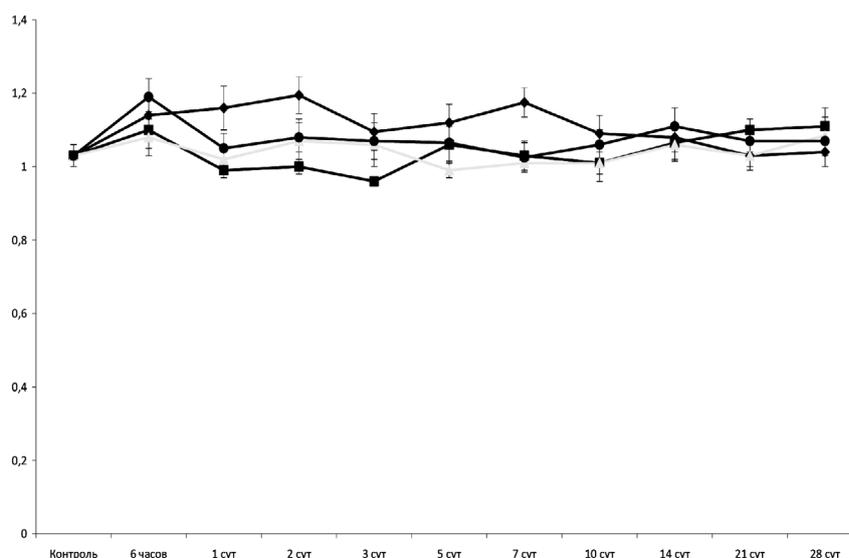


Рис. 4. ИАН (в %) в периферической крови в динамике острого инфекционного (●), вторично хронического (■), первично хронического неиммунного (▲), первично хронического иммунного воспаления (◆).

Таблица

Выраженность фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови в процессе хронизации воспаления

Воспаление	Фагоцитарная активность	
	поглотительная способность	переваривающая способность
Острое	++++	++++
Вторично хроническое	++	++
Первично хроническое неиммунное	+	+
Первично хроническое иммунное	+++	+++

активности с нейтрофильной реакцией [4-6, 15].

Вывод. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови повышена при всех видах воспаления, при остром процессе – наиболее выражено и на протяжении всего периода исследования (с 6-го ч по 28-е сут). При хроническом воспалении, по сравнению с острым, происходит запаздывание и снижение фагоцитарной активности, ее «разобщение» с нейтрофильной реакцией крови, и выражена она с такой зависимостью: первично хроническое иммунное воспаление > вторично хроническое > первично хроническое неиммунное.

Перспективы дальнейших исследований в этом направлении позволяют использовать показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови для ранней диагностики хронизации острого воспаления, а также для дифференциации первично и вторично хронического, иммунного и неиммунного хронического воспаления. Эти результаты также будут иметь значение для совершенствования профилактики и патогенетической терапии хронического воспаления.

Литература

- Ильина Н. И. Воспаление и иммунитет в общеклинической практике. Общая концепция / Н. И. Ильина, Г. О. Гудима // Цитокины и воспаление. – 2005. – №3. – С. 42–44.
- Кеворков Н. Н. Экологическая иммунология: реальность и перспективы / Н. Н. Кеворков, Б. А. Бахметьев, С. В. Ширшев // Вест. Урал. мед. академ. науки. – 2004. – №4. – С. 36–42.
- Клименко Н. А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления / Н. А. Клименко // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1993. – Т. 116, №9. – С. 249–253.
- Клименко Н. А. Лейкоцитарная реакция периферической крови крыс в динамике карагиненового

- асептического воспаления / Н. А. Клименко, А. Н. Шевченко // Медицина сьогодні і завтра. – 2003. – № 4. – С. 12–15.
5. Клименко Н. А. Лейкоцитарная реакция периферической крови крыс в динамике острого инфекционного воспаления / Н. А. Клименко, А. Н. Шевченко // Медицина сьогодні і завтра. – 2004. – № 1. – С. 40–43.
 6. Клименко Н. А. Лейкоцитарная реакция периферической крови крыс в динамике хронического гранулематозного воспаления / Н. А. Клименко, А. Н. Шевченко // Медицина сьогодні і завтра. – 2004. – № 2. – С. 5–8.
 7. Кудрявицкий А. И. Оценка киллерной бактерицидности нейтрофилов периферической крови здоровых доноров и больных в прямом визуальном методе / А. И. Кудрявицкий // Лаб. дело. – 1985. – № 1. – С. 45–47.
 8. Кулаичев А. П. Методы и средства анализа данных в среде Windows STADIA / А. П. Кулаичев. – М. : Информатика и компьютеры, 1999. – 341 с.
 9. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
 10. Распространенность хронических неинфекционных заболеваний и факторов риска в разных группах населения по данным эпидемиологического исследования / М. Н. Грунченко, С. А. Сендецкая, А. Б. Тверетинов [и др.] // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. – 2004. – № 3. – С. 32.
 11. Регеда М. С. Запалення – типовий патологічний процес : довідник / М. С. Регеда. – Львів : Сполом, 2005. – 53 с.
 12. Романюха А. А. Имунная система: норма и адаптация / А. А. Романюха // Иммунология. – 2009. – № 1. – С. 7–13.
 13. Чернух А. М. Инфекционный очаг воспаления / А. М. Чернух. – М. : Медицина, 1965. – 323 с.
 14. Чернух А. М. Воспаление: очерки патологии и экспериментальной терапии / А. М. Чернух. – М. : Медицина, 1979. – 448 с.
 15. Шевченко А. Н. Лейкоцитарная реакция периферической крови крыс в динамике хронического иммунного воспаления / А. Н. Шевченко // Медицина сьогодні і завтра. – 2004. – № 3. – С. 120–123.
 16. Экспериментальная модель неинфекционного гранулематоза легких / О. В. Макарова, В. Л. Ковалева, А. С. Сладкопцев [и др.] // Пульмонология. – 1996. – № 1. – С. 76–79.
 17. Bottasso O. Chronic inflammation as a manifestation of defects in immunoregulatory networks: implications for novel therapies based on microbial products / O. Bottasso, G. Docena, J. L. Stanford, J. M. Grange // Inflammopharmacology. – 2009. – Vol. 17, № 4. – P. 193–203.

УДК 612.017.1:616-002-092.9-07:616.15-076.1:612.112

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГОЦИТАРНОЇ АКТИВНОСТІ НЕЙТРОФІЛІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ РІЗНИХ ЗА ТЕЧІЄЮ І ЕТІОЛОГІЄЮ ВИДАХ ЗАПАЛЕННЯ

Татарко С. В.

Резюме. На різних за течією і етіологією моделях запалення – гострого інфекційного, вторинно хронічного, первинно хронічного неімунного і первинно хронічного імунного – у щурів, починаючи з 6-ї год і до 28-ї доби після введення флогогену, досліджували показники фагоцитозу – фагоцитарний індекс, фагоцитарне число та індекс активності нейтрофілів периферичної крові. Фагоцитарна активність нейтрофілів периферичної крові підвищена при всіх видах запалення, при гострому процесі – найбільш виражено і протягом усього періоду дослідження (з 6-ї год по 28-у добу). При хронічному запаленні, порівняно з гострим, відбувається запізнення і зниження фагоцитарної активності, її «роз'єднання» з нейтрофільною реакцією крові, і виражена вона з такою залежністю: первинно хронічне імунне запалення > вторинно хронічне > первинно хронічне неімунне.

Ключові слова: запалення, фагоцитарна активність, нейтрофіли крові.

УДК 612.017.1:616-002-092.9-07:616.15-076.1:612.112

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПО ТЕЧЕНИЮ И ЭТИОЛОГИИ ВИДАХ ВОСПАЛЕНИЯ

Татарко С. В.

Резюме. На различных по течению и этиологии моделях воспаления – острого инфекционного, вторично хронического, первично хронического неиммунного и первично хронического иммунного – у крыс, начиная с 6-го ч и по 28-е сут после введения флогогена, исследовали показатели фагоцитоза – фагоцитарный индекс, фагоцитарное число и индекс активности нейтрофилов периферической крови. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови повышена при всех видах воспаления, при остром процессе – наиболее выражено и на протяжении всего периода исследования (с 6-го ч по 28-е сут). При хроническом воспалении, по сравнению с острым, происходит запаздывание и снижение фагоцитарной активности, ее «разобщение» с нейтрофильной реакцией крови, и выражена она с такой зависимостью: первично хроническое иммунное воспаление > вторично хроническое > первично хроническое неиммунное.

Ключевые слова: воспаление, фагоцитарная активность, нейтрофилы крови.

UDC 612. 017. 1:616-002-092. 9-07:616. 15-076. 1:612. 112

Comparative Characteristics of Phagocytic Activity of Peripheral Blood Neutrophils at Different Types of Inflammation by Etiology and Course

Tatarko S. V.

Abstract. On different models of inflammation by etiology and course, an acute infectious, secondary chronic, primary chronic non-immune and primary chronic immune in rats, starting from the 6th hour and to 28th day after injection flogogen we investigated phagocytosis indices – the phagocytic index, phagocytic number and the activity index of peripheral blood neutrophils.

Incubated suspensions of Staphylococcus (containing 1 billion microbial cells in 1 ml blood) in blood. After 30 and 60 minutes from the start of the incubation was prepared smears, which were stained by the Romanovsky-Giemsa. After 30 minutes, determined phagocytic index and phagocytic number. After 60 min determined by phagocytic number. The index of activity of neutrophils was determined by dividing the phagocytic number 30 by phagocytic number 60.

On a model of acute infectious inflammation in rats it is shown that phagocytic activity of peripheral blood neutrophils is increased during all the term of investigation (from 6th h up to 28th day) with maxima on 2nd and 5th–7th days. It corresponds to quantitative dynamics of leukocytic reaction at this kind of inflammation.

On a model of secondary chronic inflammation in rats the following pathways, which are crucial for mechanisms of inflammation chronization, have been revealed: delay and prolongation of phagocytic activity of peripheral blood neutrophils, which is typical for acute inflammation dynamics, decrease of phagocytic activity itself, in particular of its ingestion and digestion functions, dissociation of phagocytic activity dynamics and quantitative dynamics of leukocyte reaction at later inflammation stages in connection with continued leukocyte emigration to the focus.

On a model of primary chronic inflammation in rats it was shown, that with further inflammation chronization (as compared with secondary chronic inflammation) decrease of phagocytic activity of peripheral blood neutrophils grows, dissociation of phagocytic activity dynamics and quantitative dynamics of blood leukocyte reaction increases due to decrease of neutrophil emigration to the focus and slowing down of granulopoiesis activation and also due to reduction of neutrophil role and increase of macrophage and lymphocyte role in further process progress.

On a model of chronic immune inflammation in rats it was shown, that in comparison with non-immune inflammation, phagocytic activity of peripheral blood neutrophils, both ingestion and digestion, is higher. However, it is even less connected with quantitative dynamics of neutrophil and in whole leukocyte reactions (than at non-immune chronic inflammation comparing with secondary chronic inflammation). Evidently it can be explained by higher antigen concentration in organism on the one hand, and by the fact, that leukocyte reaction is predominantly connected with changes of emigration and production of monocytes-macrophages and lymphocytes on the other hand. At the same time, chronic immune inflammation can be seen as continuing primary chronic inflammation compared with sephadex granulomatous, and findings support the proposition that, as chronic inflammation further increases “uncoupling” of the phagocytic activity of peripheral blood neutrophils from the quantitative dynamics of leukocyte reaction in connection with decrease in the role (and therefore a decrease in emigration and products) neutrophils.

Phagocytic activity of peripheral blood neutrophils increased at all types of inflammation, at acute inflammation it increased the most was observed throughout the study period (from the 6th h to 28 days). At chronic inflammation we observed delay and decrease in the phagocytic activity, its “dissociation” with neutrophilic blood reaction, and phagocytic activity is highest at primary chronic immune inflammation, then chronic secondary inflammation and then primary chronic non-immune inflammation.

Keywords: inflammation, phagocytic activity, blood neutrophils.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 14. 07. 2014 р.