

УДК 616-002:615.24:616.15

Е.Ю. Литвиненко

Харьковский национальный медицинский университет

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНАЛОГА ЭНДОГЕННЫХ ОПИОИДОВ ДАЛАРГИНА НА РЕАКЦИЮ СИСТЕМЫ КРОВИ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Эксперимент проведен на модели карагиненового острого асептического перитонита у крыс. Показано, что введение синтетического аналога эндогенных опиоидов (лей-энкефалина) даларгина существенно снижает нейтрофильную и моноцитарную реакции при воспалении: накопление и функциональную активность нейтрофилов и моноцитов-макрофагов в очаге, выход лейкоцитов из костного мозга в кровь – и увеличивает лимфоцитарную реакцию. При этом введение даларгина дает еще больший эффект, по крайней мере в отношении нейтрофильной реакции, чем только действие эндогенных опиоидов, выявленное нами ранее с использованием неселективного антагониста опиоидных рецепторов налоксона.

Ключевые слова: воспаление, система крови, опиоидные пептиды, даларгин.

Опиоидные пептиды имеют чрезвычайно широкий спектр физиологического действия. В центральной нервной системе они выполняют роль медиаторов и модуляторов синаптической передачи. Являясь одними из важнейших посредников во взаимодействии нервной, иммунной, эндокринной и других систем, опиоидные пептиды влияют на реакции организма на стресс, стимулируют синтез ДНК и т. д. Образование большинства из них является результатом последовательного протеолитического гидролиза общих белковых предшественников (проопиомеланокортин, продинорфины и др.). Экспрессия опиоидных рецепторов трех основных классов (μ , δ , κ) на мембранах клеток различных органов и тканей, в том числе и клетках иммунной системы, на окончаниях аксонов в мозговом слое надпочечников и симпатических ганглиях доказана методами радиолигандного связывания и детекции соответствующей РНК [1–3]. Существенный интерес представляет изучение роли опиоидных пептидов в патогенезе воспаления [3].

Ранее в исследованиях с использованием неселективного антагониста опиоидных рецепторов налоксона нами было показано, что эндогенные опиоиды являются модуляторами реакций системы крови при воспалении и воспаления в целом. Они увеличивают выход

лимфоцитов, уменьшают поступление нейтрофилов и особенно моноцитов из крови в очаг воспаления и из костного мозга в кровь, при этом сокращают моноцитарную и пролонгируют нейтрофильную реакцию [4].

Целью данного исследования явилось выяснение роли опиоидных пептидов в патогенезе воспаления путем изучения влияния даларгина – синтетического аналога эндогенного лей-энкефалина на реакции системы крови при воспалении.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 54 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Моделью воспаления служил острый асептический перитонит, вызываемый внутрибрюшинным введением 5 мг λ -карагинена («Sigma», США) в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [5]. В динамике асептического воспаления начиная с 3-го часа и по 10-е сутки подсчитывали общее количество лейкоцитов (ОКЛ) и состав их популяций в экссудате и периферической крови, общее количество кариоцитов (ОКК) в костном мозге бедра и миелограмму. О функциональной активности нейтрофилов очага и крови судили по активности миелопероксидазы (МПО; К.Ф. 1.11.1.7) и кислой фосфатазы (КФ; К.Ф. 3.1.3.2), моноцитов-макрофагов и лимфоцитов – по активности α -нафтилацетатэстеразы (α -НАЭ), ко-

© Е.Ю. Литвиненко, 2014

торые определяли цитохимическими методами Грэхема–Кнолля, Берстона и Леффлера соответственно и выражали в средних цитохимических коэффициентах (СЦК), за исключением активности α -НАЭ в лимфоцитах, которую выражали в виде относительного количества клеток, содержащих α -НАЭ [6].

Даларгин вводили подкожно в дозе 100 мкг/кг за 30 мин до воспроизведения воспаления [3, 7].

Статистическую обработку результатов проводили по непарному критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. При воспалении на фоне использования даларгина ОКЛ в экссудате увеличивалось по сравнению с таковым при естественном течении воспаления уже на 3-й час, 1-е и 2-е сутки, уменьшалось – на 6-й, 12-й час и 5-е сутки и было достоверно меньше на 3-и и 10-е сутки.

Содержание сегментоядерных нейтрофилов имело заметную тенденцию к уменьшению на 3-, 6- и 12-й час, практически не отличалось от такового при естественном течении воспаления на 1-е и 2-е сутки и было достоверно меньше на 3-и, 5-е и 10-е сутки. Следует отметить, что на 5-е и 10-е сутки содержание сегментоядерных нейтрофилов практически не отличалось от контроля, в то время как при естественном ходе воспаления оставалось повышенным. Таким образом, при использовании даларгина нейтрофильная реакция была выражена заметно слабее и заканчивалась раньше.

Количество моноцитов-макрофагов значительно уменьшалось в контроле, на 6-й час, 1-е, 3-и и 5-е сутки и немного увеличивалось – на 3-й час и 2-е сутки. Моноцитарная реакция при использовании даларгина была выражена заметно слабее: пик количества моноцитов-макрофагов приходился на 2-е сутки, в то время как при естественном ходе воспаления максимум наблюдался уже на 6-й час и количество клеток удерживалось на постоянном уровне с 12-го часа до 5-х суток.

Количество лимфоцитов в экссудате значительно увеличивалось и преобладало во все сроки исследования, достоверно – на 3-й, 12-й час и 1-е сутки, за исключением 10-х суток, когда количество лимфоцитов было достоверно меньше. При естественном течении воспаления содержание лимфоцитов в очаге с 3-го часа по 5-е сутки значительно

снижалось по сравнению с исходным. При воспалении на фоне действия даларгина оно по сравнению с контролем снижалось намного меньше и даже имело заметную тенденцию к увеличению на 3-й час и 5-е сутки.

Активность МПО в нейтрофилах, отражающая функциональное состояние лейкоцитов экссудата, была выше во все сроки исследования, достоверно – в контроле, на 3-й, 12-й час, 3-и, 5-е и 10-е сутки, что свидетельствует о снижении дегрануляции, т. е. функциональной активности нейтрофилов. Как известно, зрелые нейтрофилы не способны к синтезу, они получают ферменты в процессе образования в костном мозге, и увеличение активности ферментов в нейтрофилах связано с притоком «свежих» нейтрофилов, а снижение – с усилением дегрануляции или уменьшением притока. Активность нейтрофильной КФ имела тенденцию к повышению в контроле и на 10-е сутки, а на 5-е сутки была достоверно выше. Активность α -НАЭ в моноцитах была немного выше практически во все сроки исследования и достоверно повышена в контроле, на 3-й и 12-й час. Количество лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, было незначительно увеличенным практически во все сроки исследования, однако достоверно – на 2-е сутки.

ОКК в костном мозге достоверно превышало таковое в контроле, на 3-, 6-, 12-й час, 1-е, 3-и и 10-е сутки, было меньше на 2-е сутки и не отличалось от такового при естественном ходе воспаления – на 5-е. Содержание незрелых гранулоцитов в костном мозге было больше в контроле, на 3-, 6-, 12-й час, 1-е, 2-е и 3-и сутки и не отличалось – на 5-е и 10-е. Количество зрелых гранулоцитов было больше в контроле, на 3-й час и 3-и сутки, меньше – на 2-е и 10-е сутки и не отличалось – в остальные сроки. Количество моноцитов было значительно больше в контроле и во все сроки воспаления. Содержание лимфоцитов было больше в контроле, на 12-й час и 1-е сутки, меньше – на 2-е сутки и не отличалось – в остальные сроки.

Полученные результаты показывают, что при воспалении на фоне действия даларгина отмечалось значительное увеличение ОКК и количества отдельных форм лейкоцитов, особенно гранулоцитов и моноцитов и в меньшей степени лимфоцитов, в костном мозге, что в сочетании со сниженной аккумуляцией гра-

нулоцитов и моноцитов-макрофагов в очаге свидетельствует об уменьшении выхода клеток из костного мозга в кровь.

В периферической крови отмечалась тенденция к увеличению ОКЛ на 6-й, 12-й час, 1-е и 2-е сутки, к уменьшению – на 3-и сутки и было достоверно снижено – на 10-е. Содержание сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови было достоверно меньше на 3-и сутки и немного снижалось на 5-е сутки. Содержание моноцитов было незначительно увеличено до 1-х суток, достоверно – на 12-й час и 5-е сутки и достоверно снижено на 10-е сутки. Содержание лимфоцитов незначительно увеличивалось на 6-й, 12-й час, 2-е и 5-е сутки, снижалось – на 3-и сутки и было достоверно уменьшено на 10-е сутки.

Таким образом, количество лейкоцитов в крови изменялось мало, что, по-видимому, было обусловлено сочетанием снижения аккумуляции клеток в очаге и выхода из костного мозга в кровь.

Активность МПО (отражает функциональное состояние лейкоцитов) в нейтрофилах была достоверно снижена на 12-й час, 1-е и 10-е сутки, что, по-видимому, связано со снижением притока нейтрофилов из костного мозга в кровь. Активность КФ в нейтрофилах имела тенденцию к снижению до 3-х суток и к увеличению на 5-е и 10-е сутки. Активность α -НАЭ в моноцитах была немного увеличенной во все сроки исследования и достоверно повышена на 6-й час и 10-е сутки. Количество лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, имело тенденцию к увеличению практически во все сроки воспаления.

Результаты исследований указывают на незначительное изменение функционального состояния лейкоцитов периферической крови, что главным образом выражалось в снижении активности МПО в нейтрофилах.

Таким образом, при введении экзогенного опиоида даларгина существенно снижаются нейтрофильная и моноцитарная реакции при воспалении: накопление и функциональная активность нейтрофилов и моноцитов-макрофагов в очаге, выход лейкоцитов из костного мозга в кровь. Данный факт согласуется с данными о том, что эндогенные опиоиды уменьшают лейкоцитарную реакцию при воспалении, т. е. являются ее модуляторами [1]. Показано, что даларгин существенно уменьшает нейтрофильную реакцию при

воспалении, в то время как эндогенные опиоиды в совокупности – моноцитарную. Таким образом, возможно, именно эндогенные энкефалины имеют отношение к снижению нейтрофильной реакции при воспалении, а эндогенные эндорфины – моноцитарной. Как ранее указывалось, эндогенные опиоиды, снижая нейтрофильную реакцию, одновременно продлевают ее. При дополнительном введении экзогенного опиоида даларгина происходит не только уменьшение нейтрофильной реакции, но и значительное ее сокращение, что, может быть, обусловлено избыточным введением опиоидов извне.

Вместе с тем при введении даларгина существенно усиливаются накопление и функциональная активность лимфоцитов в очаге воспаления. По-видимому, действие опиоидов на лейкоцитарную реакцию реализуется через активацию лимфоцитов, увеличение продукции лимфокинов, концентрации и соотношения которых могут как стимулировать, так и угнетать нейтрофильную и моноцитарную реакции (за счет регуляции воспалительных клеток, воспалительных явлений, гемопозеза).

Напротив, на фоне избыточного угнетения опиоидами (как и при экзогенном их введении в больших дозах) нейтрофильной и моноцитарной реакцией усиленная лимфоцитарная реакция может быть компенсаторной, направленной на восстановление нейтрофильной и моноцитарной реакций, или отражает хронизацию воспаления, возникающую при угнетении нейтрофильной и моноцитарной реакций, так как лимфоциты являются клетками хронического воспаления.

Выводы

1. При воспалении на фоне введения экзогенного опиоида (даларгина) значительно снижается нейтрофильная и моноцитарная реакции: накопление и функциональная активность нейтрофилов и моноцитов-макрофагов в очаге, выход лейкоцитов из костного мозга в кровь. Таким образом, эндогенные опиоиды уменьшают лейкоцитарную реакцию при воспалении, т. е. являются ее модуляторами.

2. Влияние даларгина (аналога лей-энкефалина) оказалось более эффективным в отношении уменьшения нейтрофильной реакции, чем действие эндогенных опиоидов,

виявленне с помощью налоксона – неселективного антагониста опиоидных рецепторов. Возможно, что эндогенные энкефалины имеют отношение к снижению нейтрофильной реакции при естественном ходе воспаления.

3. После введения даларгина в очаге воспаления заметно усиливаются накопление и функциональная активность лимфоцитов. Возможно, действие опиоидов на лейкоцитарную реакцию во многом реализуется через активацию лимфоцитов.

Список литературы

1. Роль блокады различных типов опиатных рецепторов в регуляции иммуномодулирующих эффектов ротационного стресса / Т. А. Баева, С. В. Гейн, И. Л. Шаравьева, С. П. Тендрякова // Проблемы загрязнения окружающей среды – 2005 : междунар. конф. : тезисы науч. конф. – Пермь, 2005. – С. 56.

2. Гейн С. В. Участие β -эндорфина и селективных лигандов d, m-опиатных рецепторов в регуляции пролиферативной активности лимфоцитов *in vitro* / С. В. Гейн, Т. А. Симоненко // III конференция иммунологов Урала. Челябинск, 2003 // Иммунология Урала. – 2003. – № 1. – С. 5.

3. Дыгай А. М. Воспаление и гемопоэз / А. М. Дыгай, Н. А. Клименко. – Томск : Изд-во Томск. ун-та, 1992. – 276 с.

4. Клименко Н. А. Влияние налоксона на реакции системы крови при воспалении / Н. А. Клименко, Е. Ю. Литвиненко // Медицина сегодня и завтра. – 2004. – № 4. – С. 76–80.

5. Клименко Н. А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления / Н. А. Клименко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1993. – Т. 116, № 9. – С. 249–253.

6. Лабораторные методы исследования в клинике : [справочник / под ред. В. В. Меньшикова]. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.

7. Курзанов А. Н. Дозозависимые эффекты даларгина в анестезиологии и интенсивной терапии (Обзор литературы) / А. Н. Курзанов, И. Б. Заболотских, С. В. Чуприн // Вестник интенсивной терапии. – 2002. – № 4. – С. 50–52.

О.Ю. Литвиненко

ОЦІНКА ВПЛИВУ АНАЛОГА ЕНДОГЕННИХ ОПІОЇДІВ ДАЛАРГІНУ НА РЕАКЦІЇ СИСТЕМИ КРОВІ ПРИ ЗАПАЛЕННІ

Експеримент проведено на моделі карагіненового гострого асептичного перитоніту у щурів. Показано, що введення синтетичного аналога ендogenous опіоїдів (лей-енкефаліну) даларгін значно знижує нейтрофілну та моноцитарну реакції при запаленні: накопичення і функціональну активність нейтрофілів і моноцитів-макрофагів у вогнищі, вихід лейкоцитів з кісткового мозку у кров – і збільшує лімфоцитарну реакцію. При цьому введення даларгін дає ще більший ефект, принаймні у відношенні нейтрофільної реакції, ніж тільки дія ендogenous опіоїдів, виявлена нами раніше з використанням неселективного антагоніста опіоїдних рецепторів налоксону.

Ключові слова: запалення, система крові, опіоїдні пептиди, даларгін.

Ye. Yu. Litvinenko

ESTIMATION OF ENDOGENOUS OPIOIDS ANALOGUE DALARGIN INFLUENCE ON THE BLOOD SYSTEM REACTIONS IN INFLAMMATION

Experiment is made on the model of carrageenan-induced acute aseptic peritonitis in rats. It is shown, that administration of synthetic analogue of endogenous opioids (lay-enkephalins) Dalargin considerably reduces neutrophilic and monocytic reactions at inflammation: accumulation and functional activity of neutrophils and monocytes-macrophages in a focus, efflux of leukocytes from bone marrow into blood, and increase lymphocytic reaction. Thus, administration of Dalargin gives more greater effect, at least in regard to neutrophilic reaction, than only the action of endogenous opioids, found out by us before with the use of unselective antagonist of opioid receptors naloxone.

Key words: inflammation, blood system, opioid peptides, Dalargin.

Поступила 18.03.14