

УДК 616-002.1-018.53-092.9

Н.А. Шутова

Харьковский национальный медицинский университет

РОЛЬ ЭОЗИНОФИЛЬНЫХ МАРКЕРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОГО НЕИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Наличие в секреторных гранулах эозинофилов специфических ферментов, способных к высвобождению при вовлечении этих клеток в воспалительный процесс, предполагает возможность активного участия эозинофилов в патогенезе острого неиммунного воспаления. Приведены данные исследований эозинофильной реакции очага, красного костного мозга и периферической крови при карагиненовом остром асептическом перитоните. Описана активность эозинофильного маркера – эозинофильной пероксидазы, которая служит показателем эффекторной активности эозинофилов в патогенезе воспаления. Установлено, что усиление эозинофильной активности может снижать тяжесть воспалительных явлений в целом.

Ключевые слова: *воспаление, эозинофильная реакция, эозинофильные маркеры.*

Эозинофилы традиционно рассматриваются, с одной стороны, как клетки, выполняющие цитотоксическую функцию, с другой – как модуляторы аллергических реакций [1–5], значительно меньше данных о роли эозинофилов в патогенезе неиммунного воспаления. Известно, что эозинофилы способствуют фибринолизу, ингибируют дегрануляцию или даже фагоцитируют гранулы тучных клеток [6] и, как следствие, подавляют высвобождение гистамина. Кроме того, эозинофилы продуцируют ферменты, участвующие в отграничении очага воспаления [7].

Степень вовлечения эозинофила, равно как и любой другой клетки, в патогенез воспаления определяется активностью так называемых маркеров. Для эозинофилов такими маркерами, с помощью которых они выполняют свои функции, являются рецепторы, расположенные на поверхности мембраны [8, 9], и ацидофильные гранулы, содержащие большой набор ферментов, обладающих высокой протеолитической активностью. Выраженность взаимодействия рецепторов с патогенным агентом тесным образом связана со способностью эозинофилов высвобождать содержащиеся в гранулах ферменты в увеличенном количестве [1, 10].

© Н.А. Шутова, 2014

В настоящее время высвобождение ферментов эозинофилами – активный феномен, предполагающий их активное участие в острых неиммунных воспалительных процессах, также как нейтрофилов, тучных клеток и других клеток [11, 12]. Поэтому характеристика функциональных параметров и данные корреляции количества эозинофилов в очаге, красном костном мозге и периферической крови могут быть важными показателями определения степени тяжести неиммунного воспаления.

Цель исследования – определение корреляционной зависимости эффекторной активности эозинофилов от активности маркера эозинофилов – эозинофильной пероксидазы – в патогенезе воспаления.

Материал и методы. Работа выполнена на 157 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г, использованы патофизиологические, гематологические, цитохимические и статистические методы исследования. Модель воспаления – карагиненовый острый асептический перитонит [13]. Контролем служили 6 интактных крыс-самцов.

О лейкоцитарной реакции очага, красного костного мозга и периферической крови судили по результатам подсчета клеточного

состава экссудата, общего количества кариоцитов (ОКК) костного мозга и общего количества лейкоцитов (ОКЛ) периферической крови соответственно [14]. О функциональной активности эозинофилов очага и периферической крови судили по активности маркерного фермента эозинофилов – эозинофильной пероксидазы, которую определяли цитохимическим методом [15].

Статистическую обработку результатов исследования проводили методами вариационной статистики с помощью t-критерия Стьюдента. Вероятность полученных результатов оценивали на уровне значимости не менее чем 95 % ($p \leq 0,05$) [16].

Результаты. В очаге в ранние сроки воспаления наблюдалась заметная тенденция к снижению количества эозинофилов по сравнению с таковым у интактных крыс (рис. 1).

К 6-му часу количество эозинофилов имело выраженную тенденцию к увеличению – в 1,7 раза, что соответствовало пику ОКЛ. На 1-е сутки наблюдалось минимальное количество эозинофилов в очаге – более чем в 4 раза ниже контроля, в последующем оно увеличивалось относительно показателя в 1-е сутки и до 10-х суток колебалось в близких пределах с незначительными пиками на 3-и и 7-е сутки. Эта динамика количества эозинофилов не совпадала с таковой ОКЛ.

ОКЛ в брюшной полости снижалось к 1-м суткам по сравнению с показателем на 6-й час, однако оставалось выше контрольного значения в 1,8 раза. В последующем ОКЛ поддерживалось примерно на том же уровне с некоторым снижением на 3-и и 7-е сутки, а на 10-е сутки вновь было достоверно больше контроля.

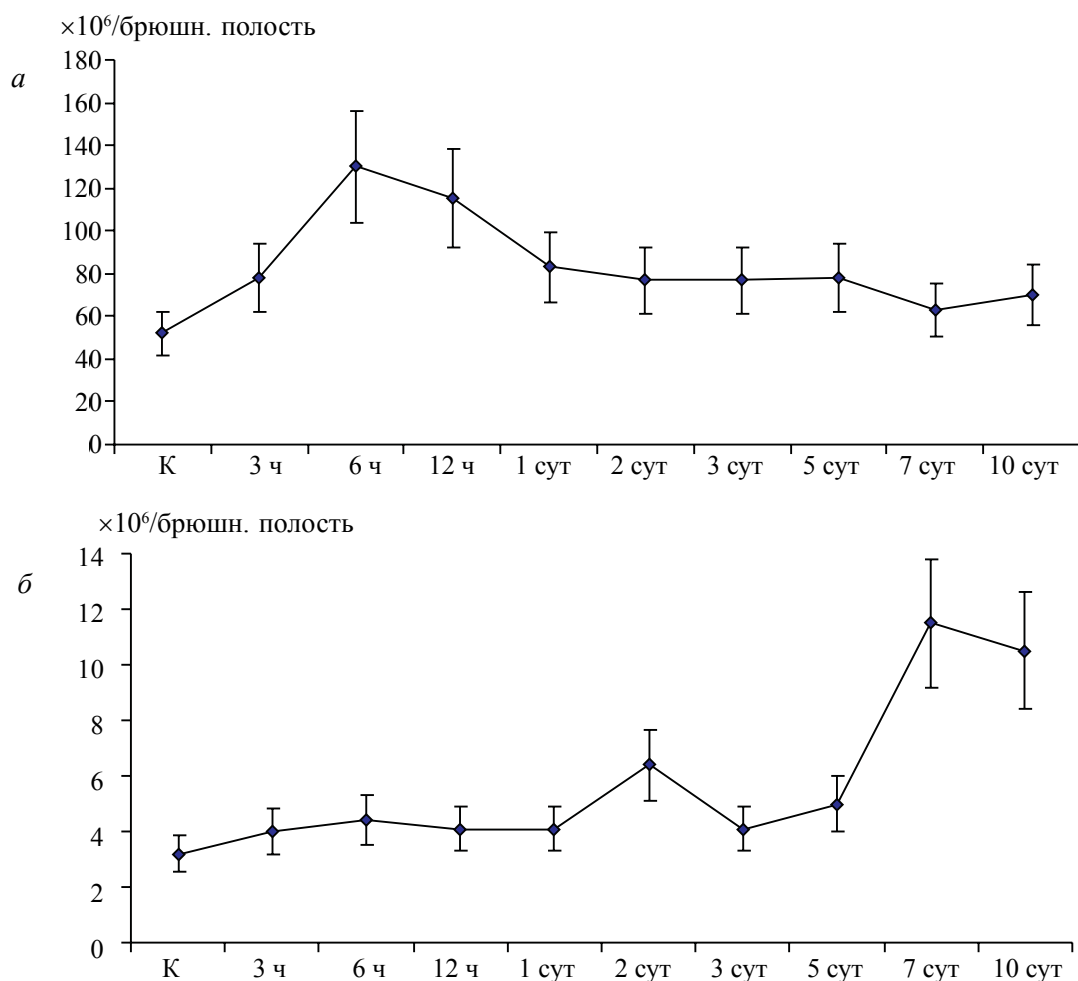


Рис. 1. Лейкоциты брюшной полости крыс в динамике острого асептического перитонита:
* $p < 0,05$; # $p < 0,01$ в сравнении с контролем; а – ОКЛ; б – эозинофилы

В костном мозге количество эозинофилов заметно возрастало с 3-го часа по 10-е сутки с пиками на 2-е и особенно на 7-е сутки (рис. 2). При этом на 2-е сутки оно соответствовало пикам ОКК и отдельных клеточных

эза. В то же время количество эозинофилов на 3-й час имело тенденцию к увеличению, а на 6-й и 12-й час возрастало достоверно, но не столь значительно, с некоторым пиком на 6-й час.

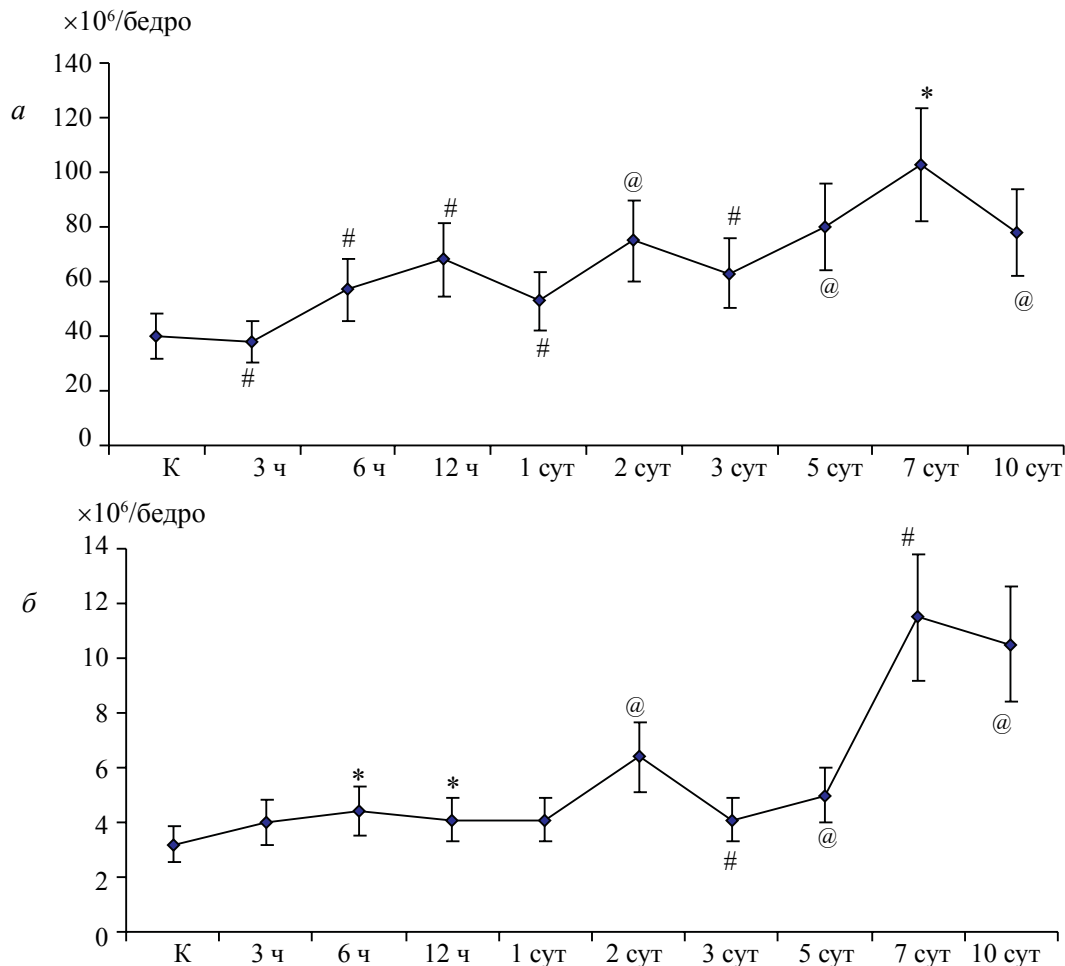


Рис. 2. Лейкоциты красного костного мозга в динамике острого асептического перитонита: * $p < 0,05$; # $p < 0,01$; @ $p < 0,001$ в сравнении с контролем; а – ОКК; б – эозинофилы

форм, свидетельствующим об активации гемопоэза, а на 7-е сутки – повторному увеличению ОКК, по-видимому, связанному с развитием гиперплазии костного мозга, что подтверждается значительным увеличением содержания бластных клеток в костном мозге на 7-е сутки.

Динамика количества эозинофилов не совпадала с таковой ОКК до 1-х суток. К 3-му часу прослеживалось снижение ОКК, с 6-го по 12-й час – увеличение с пиком на 12-й час, что, видимо, было связано сначала с выходом костномозговых клеток из постмитотического резервного пула, а затем с активацией гемопо-

В периферической крови количество эозинофилов имело тенденцию к увеличению в первые три часа, по-видимому, в связи со снижением их выхода в брюшную полость; к уменьшению – на 6-й и 12-й час, связанному, по-видимому, с усиленной их дегрануляцией в этот период; к повторному увеличению – на 1-е, 3-и и 5-е сутки и достоверно увеличивалось на 7-е сутки (рис. 3).

Увеличение количества эозинофилов к 3-му часу и 1-м суткам совпадало с пиком ОКЛ, на 3-и и 7-е сутки – с повторным увеличением ОКЛ. Данные изменения ОКЛ и количества эозинофилов в частности, по-види-

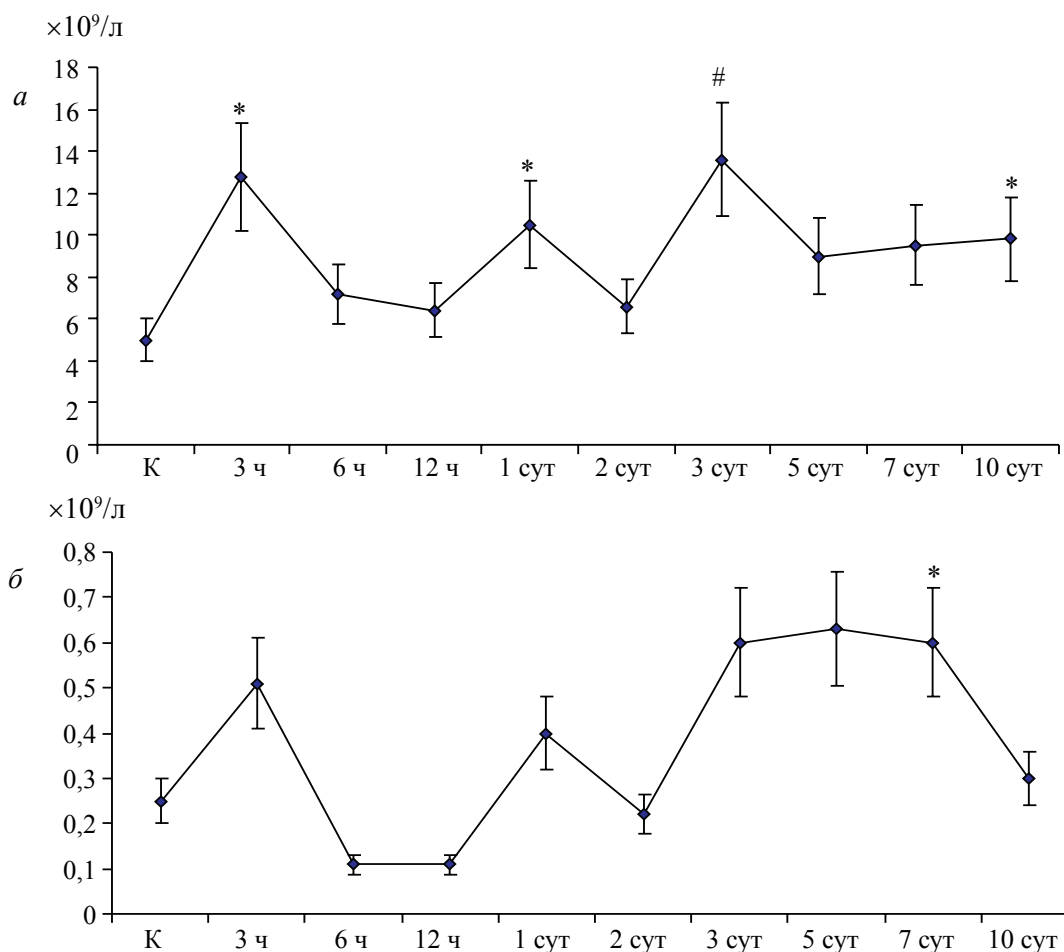


Рис. 3. Лейкоциты периферической крови в динамике острого асептического перитонита: * $p < 0,05$; # $p < 0,01$ в сравнении с контролем; а – ОКЛ; б – эозинофилы

тому, связаны с поступлением к 3-м суткам воспаления лейкоцитов из костномозгового резервного пула, на 1-е и 3-и сутки – с активацией кроветворения, на 7–10-е сутки – с развитием гиперплазии костного мозга.

Активность эозинофильной пероксидазы в эозинофилах экссудата заметно возрастала на 5–30-ю минуту. К 12-му часу наблюдалась достоверно максимальная активность эозинофильной пероксидазы относительно таковой у интактных крыс, которая снижалась к 3-му часу и особенно ко 2-м суткам и была ниже контроля (рис. 4, а).

Достоверное повышение активности эозинофильной пероксидазы к 12-му часу сопровождалось уменьшением количества эозинофильных гранулоцитов в очаге и красном костном мозге. Повторное увеличение активности эозинофильной пероксидазы, наблюдаемое с 3-х по 10-е сутки, с незначительным

уменьшением на 5-е сутки сопровождалось увеличением количества эозинофилов в красном костном мозге, что, может быть, связано с уменьшением их количества в очаге и параллельным эозинопоэзом в красном костном мозге в этот период. Изменения активности эозинофильной пероксидазы не совпадали с изменениями притока эозинофилов в очаг.

Активность эозинофильной пероксидазы в эозинофилах периферической крови имела тенденцию к повышению к 3-му, 12-му часу и 1-м суткам, снижалась на 3-и сутки и была достоверно увеличена на 7-е сутки, что не совпадало с притоком эозинофилов из костного мозга в кровь (рис. 4, б).

Обсуждение результатов. Таким образом, на модели карагиненового острого асептического перитонита была исследована эозинофильная реакция очага, красного костного мозга и периферической крови, а также

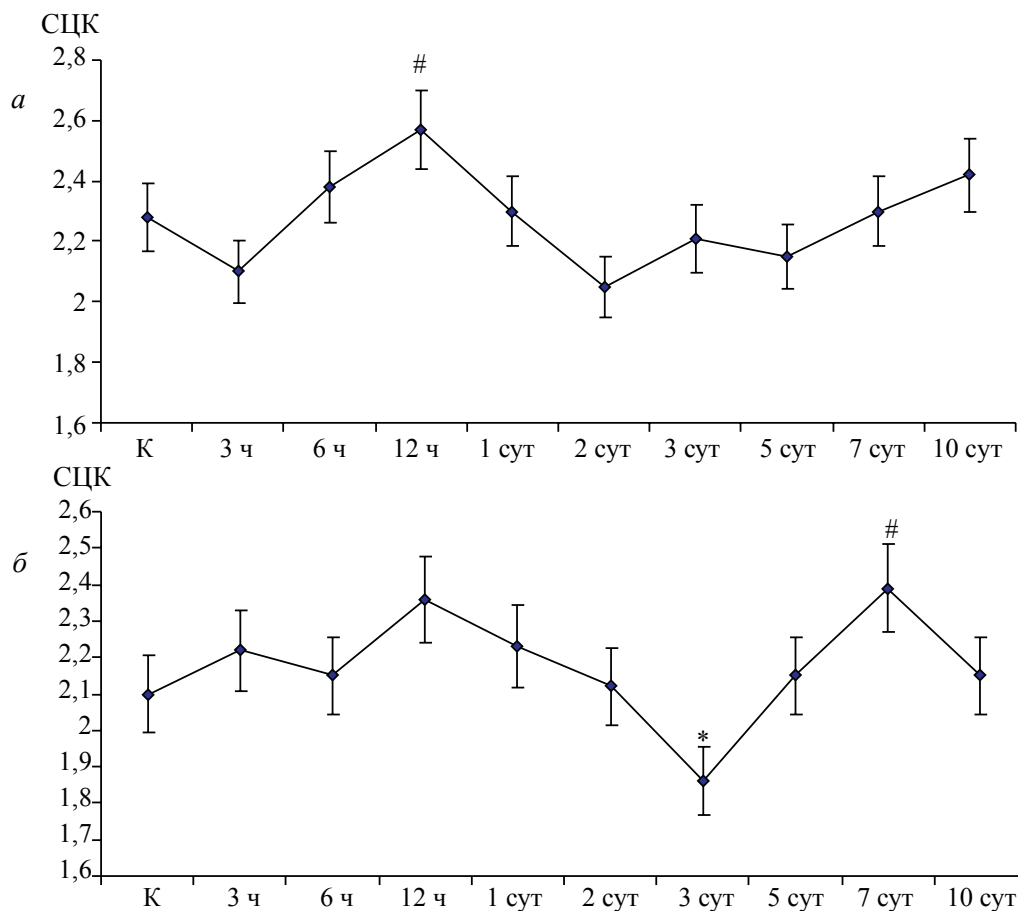


Рис. 4. Активность эозинофильной пероксидазы в эозинофилах в брюшной полости (а) и периферической крови (б) в динамике острого асептического перитонита у крыс:
* $p < 0,05$; # $p < 0,01$ в сравнении с контролем

активность эозинофильной пероксидазы в эозинофилах экссудата и периферической крови. Установлено, что в очаге в ранние сроки воспаления прослеживалась тенденция к снижению количества эозинофилов по сравнению с контролем, по-видимому, за счет дегрануляции и альтерации эозинофилов. Это происходило на фоне транзиторного снижения ОКЛ. К 6-му часу наблюдалась тенденция к увеличению содержания эозинофилов, соответствующая пику ОКЛ. На 1-е сутки количество эозинофилов снижалось до минимума, в последующем оно возрастало до 10-х суток. Эта динамика количества эозинофилов не совпадала с таковой ОКЛ.

В красном костном мозге динамика количества эозинофилов также не совпадала с изменением клеточного состава ОКК. Изменение ОКК и эозинофилов в костном мозге могло быть связано с поступлением лей-

коцитов из костномозгового резервного пула в периферическую кровь в более ранние сроки воспаления, а также с активацией гемопоэза и усилением гиперплазии красного костного мозга, характерного для костного мозга в более поздние сроки воспаления.

В периферической крови увеличение количества эозинофилов совпадало с первым пиком ОКЛ и связано с поступлением лейкоцитов из костномозгового резервного пула, в это время ОКК в костном мозге уменьшалось.

Изменения активности эозинофильной пероксидазы экссудата, наблюдавшиеся на фоне уменьшения количества эозинофилов в очаге, по-видимому, связаны с активацией самих клеток, они не совпадали с изменениями притока эозинофилов в очаг и были зависимы, по-видимому, от способности эозинофилов синтезировать и высвободить ферменты даже в период пребывания их в очаге.

Следовательно, активность эозинофильной пероксидазы в эозинофилах очага и периферической крови не коррелирует с динамикой количества эозинофилов при естественном течении воспаления, что свидетельствует об усилении дегрануляции эозинофилов в ранние сроки воспаления, а также об усилении синтеза гранул эозинофилов в более поздние сроки. Усиленная дегрануляция эозинофилов на ранних сроках воспаления свидетельствует об активном их участии в элиминации флоггена, т. е. самостоятельной роли эозинофилов во вторичной альтерации. Последующее привлечение эозинофилов в очаг, осуществляемое в первую очередь хемотаксическими факторами тучных клеток, возможно, объясняет эффекторную функцию эозинофилов в поздние сроки воспаления. Активность эозинофильной пероксидазы и других цитотоксических ферментов, входящих в состав гранул эозинофилов, на более поздних сроках развития воспалительной реакции указывает на способность эозинофилов к нейтрализации или взаимной регуляции синтеза и секреции ряда медиаторов воспаления, продуцируемых в том числе и тучными клетками, что приводит в конечном итоге к снижению тяжести воспалительных явлений в целом.

Известно, что нейтрофилы угнетают ферментативную активность эозинофильной пероксидазы, а последняя повышает адгезивность нейтрофилов. Известно также, что эози-

нофилы живут дольше, чем нейтрофилы [6]. Кроме того, зрелые эозинофилы, в отличие от нейтрофилов, способны к дальнейшему синтезу гранул [17]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что эозинофилы играют активную, самостоятельную роль в остром неиммунном воспалении. В частности, одновременно с нейтрофилами они могут играть эффекторную роль в очаге воспаления.

Выводы

1. Эозинофилы вовлекаются в патогенез не только иммунного, но и неиммунного воспаления. При остром неиммунном воспалении происходят фазные изменения содержания эозинофилов в очаге, костном мозге и периферической крови, свидетельствующие об активном участии эозинофилов в развитии воспалительного процесса.

2. При остром неиммунном воспалении усиливается дегрануляция эозинофилов и повышается активность эозинофильной пероксидазы, как следствие, усиливается взаимная регуляция синтеза и секреции ряда медиаторов воспаления, что в конечном итоге приводит к снижению тяжести воспалительных явлений в целом.

3. Показатели изменения активности эозинофильного маркера – эозинофильной пероксидазы – могут учитываться при оценке тяжести течения воспалительного процесса в целом.

Список литературы

1. *Matsumoto K.* Involvement of eosinophils in the onset of asthma / K. Matsumoto, M. Tamari, H. Saito // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – V. 121, № 1. – P. 26–27.
2. *Джальчинова В. Б.* Эозинофилы и их роль в патогенезе аллергических заболеваний / В. Б. Джальчинова, Г. М. Чистяков // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* – 1999. – № 5. – С. 42–45.
3. *Blanchard C.* Basic pathogenesis of eosinophilic esophagitis / C. Blanchard, M. E. Rothenberg // *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* – 2008. – V. 18, № 1. – P. 133–143.
4. A role for eosinophils in adaptive humoral immunity / Robert S. Speirs, Elizabeth E. Speirs, Nicholas M. Ponzio // *The Open Immunology J.* – 2009. – V. 2. – P. 168–186.
5. *Weller P. F.* The immunobiology of eosinophils / P. F. Weller // *N. Engl. J. Med.* – 1991. – V. 324. – P. 1110–1118.
6. *Gleich G. J.* The eosinophilic leukocyte: structure and function / G. J. Gleich, C. R. Adolphson // *Adv. Immunol.* – 1986. – V. 39. – P. 177–253.
7. *Capron M.* L'éosinophile: récepteurs et médiateurs / M. Capron, V. Gruart // *Rev. Fr. Allergol.* – 1990. – V. 30 (2). – P. 71–75.
8. *Fulkerson P. C.* Eosinophils and CCR3 regulate interleukin-13 transgene-induced pulmonary remodeling / P. C. Fulkerson, C. A. Fischetti, M. E. Rothenberg // *Am. J. Pathol.* – 2006. – V. 169, № 6. – P. 2117–2126.

9. Markers of eosinophilic and neutrophilic inflammation in bronchoalveolar lavage of asthmatic and atopic children / D. Snijders, S. Agostini, F. Bertuola [et al.] // *Allergy*. – 2010. – V. 65, iss. 8. – P. 978–985.
10. Eosinophil cationic protein (ECP) in saliva: a new marker of disease activity in bronchial asthma / B. Schmekel, J. Ahlner, M. Malmstrom, P. Venge // *Respir. Med.* – 2001. – V. 95, № 8. – P. 670–675.
11. Coyle A. J. Cellular mechanisms in airway inflammation / A. J. Coyle, J. C. Gutierrez-Ramos // eds. Birkhäuser Verlag, 2000. – P. 147–158.
12. Клітинні та молекулярні, локальні та системні механізми гострого та хронічного запалення / М. О. Клименко, Р. У. Ліпшиць, С. В. Татарко [та ін.] // *Тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С. И. Георгиевского*. – Симферополь, 2006. – Т. 142, ч. 3. – С. 234–236.
13. 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.
14. Лабораторные методы исследования в клинике : [справочник / под ред. В. В. Меньшикова]. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
15. Eosinophil peroxidase deficiency: morphological and immunocytochemical studies of the eosinophil specific granules / G. Zabucchi, M. R. Soranzo, R. Menegazzi [et al.] // *J. Blood*. – 1992. – V. 80. – P. 2903–2910.
16. Саймон Д. Анализ данных в Excel: Наглядный курс создания отчетов, диаграмм и сводных таблиц / Д. Саймон ; пер. с англ. – СПб. : Диалектика, 2004. – 516 с.
17. Adamko D. Mechanisms of eosinophil recruitment and activation / D. Adamko, P. Lacy, R. Moqbel // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2002. – V. 2. – P. 107–116.

Н.А. Шутова

РОЛЬ ЕОЗИНОФІЛЬНИХ МАРКЕРІВ У ПАТОГЕНЕЗІ ГОСТРОГО НЕІМУННОГО ЗАПАЛЕННЯ

Наявність у секреторних гранулах еозинофілів специфічних ферментів, здатних до вивільнення при залученні цих клітин у запальний процес, передбачає можливість активної участі еозинофілів у патогенезі гострого неімунного запалення. Наведено дані досліджень еозинофільної реакції вогнища, червоного кісткового мозку та периферичної крові при карагіненовому гострому асептичному перитоніті. Надано опис активності еозинофільного маркера – еозинофільної пероксидази, яка є показником ефекторної активності еозинофілів у патогенезі запалення. Встановлено, що посилення еозинофільної активності може знижувати тягар запальних явищ у цілому.

Ключові слова: запалення, еозинофільна реакція, еозинофільні маркери.

N.A. Shutova

ROLE OF EOSINOPHILIC MARKERS IN A PATHOGENESIS OF AN ACUTE NONIMMUNE INFLAMMATION

Existence in secretory granules of eosinophils of the specific enzymes capable to release at involvement of these cells in inflammatory process, assumes possibility of active participation of eosinophils in a pathogenesis of an acute nonimmune inflammation. Data of researches of eosinophilic reaction of the center, bone marrow and peripheric blood are provided at karaginen acute aseptic peritonitis. Activity of an eosinophilic marker – an eosinophilic peroxidase which can serve as an indicator of effector activity of eosinophils in an inflammation pathogenesis is described. It is established, that intensifying of eosinophilic activity can reduce gravity of the inflammatory phenomena as a whole.

Key words: inflammation, eosinophilic reaction, eosinophilic marker.

Поступила 13.01.14