

УДК 616-002.1-02-085.212.7-092.9:612.112

Е.Ю. Литвиненко

Харьковский национальный медицинский университет

РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ КРОВИ ПРИ ОСТРОМ ВОСПАЛЕНИИ НА ФОНЕ БЛОКАДЫ ОPIOИДНЫХ К-РЕЦЕПТОРОВ НОРБИНАЛТОРФИМИНОМ

Использование селективного блокатора опиоидных к-рецепторов норбинаторфимина у крыс с острым асептическим перитонитом, вызванным внутрибрюшинным введением λ -карагинена (Sigma, США) в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия, показало, что эндогенные опиоиды через к-рецепторы опосредуют усиление в большей степени лимфоцитарной, отчасти нейтрофильной, угнетение моноцитарной реакций, что при остром воспалении характеризуется соответствующим нарушением аккумуляции лейкоцитов в очаге и изменением функциональной активности клеток, а также их выходом из костного мозга в кровь.

Ключевые слова: острое воспаление, система крови, опиоидные к-рецепторы.

Система эндогенных опиоидов представлена опиоидными рецепторами, опиоидными пептидами, их агонистами и ферментами, осуществляющими синтез и инактивацию агониста. Опиоидные пептиды, как важнейшие посредники во взаимодействии нервной, эндокринной и других систем организма, индуцируют различные молекулярно-клеточные события, развивающиеся после лиганд-рецепторного взаимодействия, оказывая существенное влияние на процессы физиологической адаптации [1–3]. Доказана экспрессия на мембранах клеток различных органов и тканей, в том числе иммунной системы, опиоидных рецепторов трех основных классов (μ , δ , κ) [1–4].

Ранее в наших исследованиях было показано модулирующее влияние опиоидных пептидов на реакции системы крови при воспалении (уменьшение эмиграции нейтрофилов и моноцитов и увеличение выхода лимфоцитов из крови в очаг и из костного мозга в кровь) [5]. Введение неселективного лиганда периферических μ - и δ -опиоидных рецепторов – далагина – потенцирует реакцию нейтрофилов [6, 7]. Существенный интерес представляет дальнейшее изучение роли эндогенных опиоидов в патогенезе воспаления.

Целью исследования явилось изучение влияния норбинаторфимина – селективного блокатора опиоидных к-рецепторов – на реакции системы крови при остром воспалении.

© Е.Ю. Литвиненко, 2015

Материал и методы. Исследование проведено на 54 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Модель воспаления – острый асептический перитонит, вызванный внутрибрюшинным введением 5 мг λ -карагинена (Sigma, США) в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [7]. При воспалении начиная с 3-го часа и по 10-е сутки в экссудате и периферической крови подсчитывали общее количество лейкоцитов и состав их популяций, в костном мозге бедра – общее количество кардиоцитов и миелограмму. О функциональном состоянии 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 -нафтилацетат-эстеразы (α -НАЭ), которые определяли цитохимическими методами Грэхема–Кнолля, Берстона и Леффлера соответственно и выражали в средних цитохимических коэффициентах. Активность α -НАЭ в лимфоцитах выражали в относительном количестве клеток, содержащих α -НАЭ [8]. Норбинаторфимин вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мкг в 1 мл изотонического раствора NaCl за 15 мин до вызывания воспаления [2]. Для статистической обработки результатов использовали непарный критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. При остром воспалении общее количество лейкоцитов в экссудате на фоне действия норбинаторфимина имело тенденцию к снижению

по сравнению с таковым при естественном течении воспаления на 6-й и 12-й час, 1-е и 3-и сутки и было достоверно меньше на 5-е и 10-е сутки (рис. 1, а). В исследуемой группе

к увеличению на 3-й час и 1-е сутки и снижению на 12-й час и 5-е сутки (рис. 1, з).

Таким образом, при остром воспалении на фоне действия норбинаторфимина в очаге

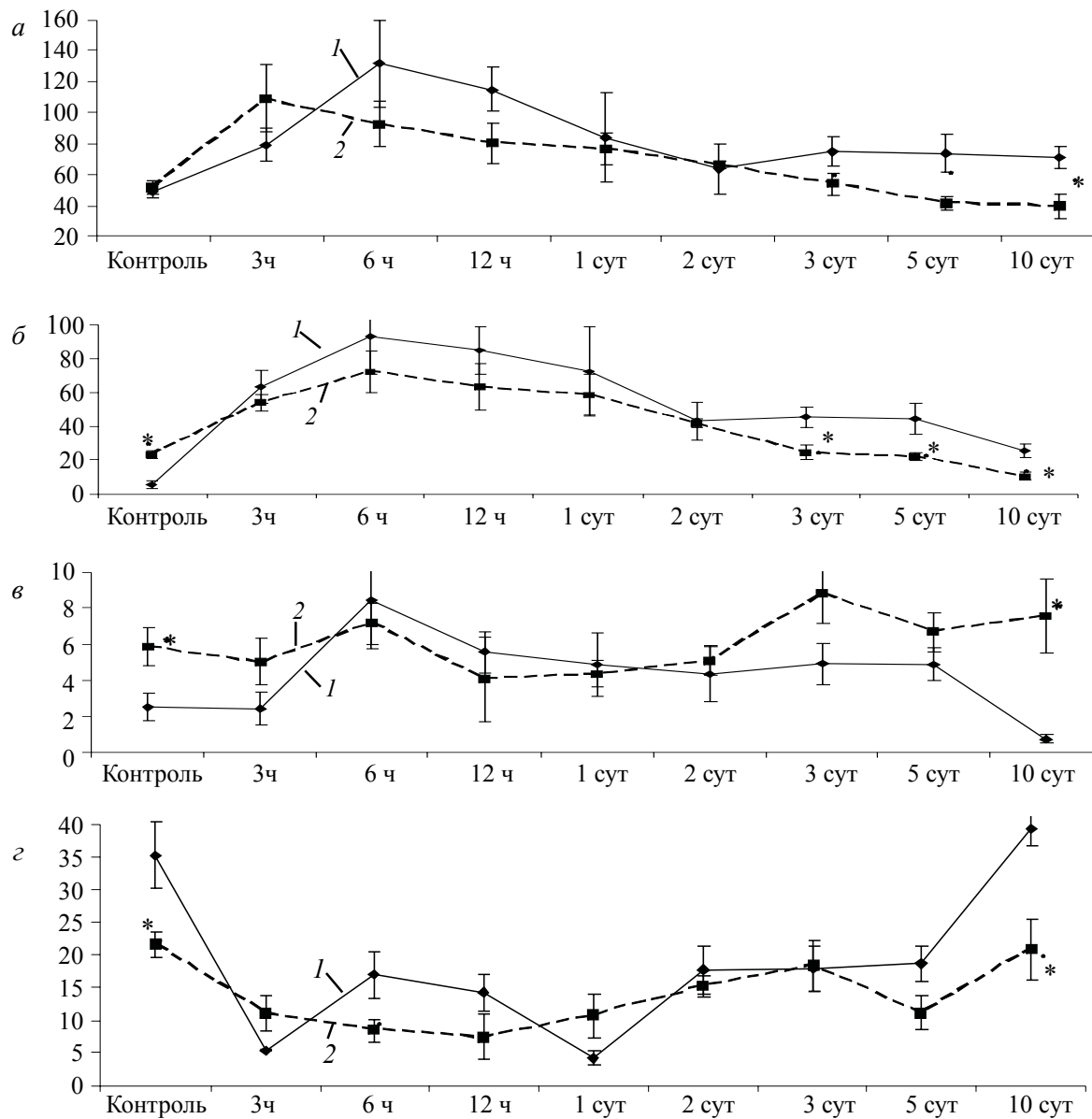


Рис. 1. Общее количество лейкоцитов (а) и содержание сегментоядерных нейтрофилов (б), моноцитов (в) и лимфоцитов (з) (x10⁶) в экссудате у крыс в динамике острого асептического перитонита при естественном развитии воспаления (1) и на фоне действия норбинаторфимина (2)

содержание сегментоядерных нейтрофилов достоверно превышало таковое в контроле, а затем несколько снижалось на 3-й, 6-й, 12-й час и 1-е сутки и было достоверно меньше на 3-и, 5-е и 10-е сутки (рис 1, б). Число моноцитов-макрофагов в группе контроля было исходно больше, затем продолжало увеличиваться на 3-й час, 3-и и 5-е сутки и существенно преобладало на 10-е сутки (рис. 1, в). Количество лимфоцитов в контрольной группе было достоверно меньше, имело тенденцию

происходит уменьшение общего количества лейкоцитов, особенно в более поздние сроки исследования (3-и – 10-е сутки), содержания сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, а также увеличение числа моноцитов-макрофагов.

О функциональном состоянии лейкоцитов экссудата свидетельствовала активность миелопероксидазы в нейтрофилах, которая в большинстве сроков исследования была достоверно выше таковой в контрольной группе,

за исключением 2-х суток (рис. 2, а), что отражало снижение функциональной активности нейтрофилов. Активность КФ была достоверно выше таковой в контроле, на 1-е, 3-и и 5-е сутки и снижалась на 10-е (рис. 2, б). В моноцитах-макрофагах активность α -НАЭ была достоверно меньше, чем в контроле, с 12-го часа по 10-е сутки (рис. 2, в), что указывало на усиление дегрануляции и, соответственно, функциональной активности клеток. Количество лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, увеличивалось на 3-й час и 3-и сутки и уменьшалось на 10-е сутки (рис. 2, г); подобная динамика согласовывалась с изменениями аккумуляции лимфоцитов в очаге воспаления.

Таким образом, полученные данные о количественных изменениях клеток очага воспаления согласуются с данными динамики

функционального состояния лейкоцитов экссудата, где отмечалось снижение аккумуляции и функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов и увеличение – моноцитов-макрофагов.

Показатели костномозгового кровотока при остром воспалении на фоне действия норбинаторфимина по сравнению с таковым при естественном течении воспаления характеризовались увеличением общего количества кариоцитов в костном мозге, которое было существенно больше в контрольной группе во все сроки исследования (рис. 3, а), причем незрелых нейтрофилов было больше на 3-й и 6-й час и меньше с 12-го часа по 10-е сутки (рис. 3, б), а зрелых было больше в контроле на 3-й и 6-й час и меньше на 12-й час, 2-е и 10-е сутки (рис. 3, в), количество моно-

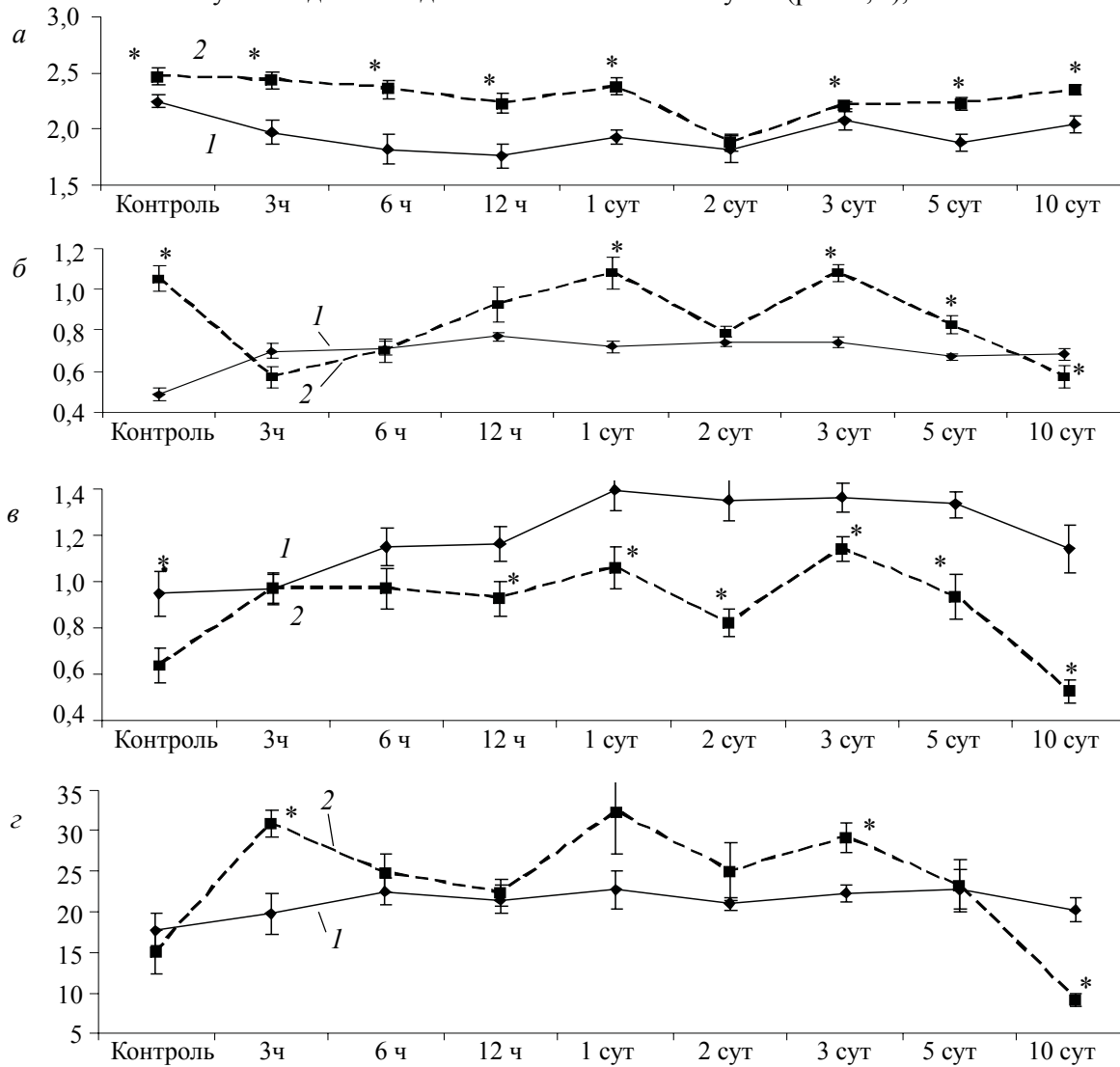


Рис. 2. Активность миелопероксидазы (а) и кислой фосфатазы (б) в нейтрофилах, α -нафтилацетат-эстеразы в моноцитах (в) (в СЦК) и лимфоцитах (г) (в %) экссудата у крыс в динамике острого асептического перитонита при естественном развитии воспаления (1) и на фоне действия норбинаторфимина (2); * $p > 0,01$

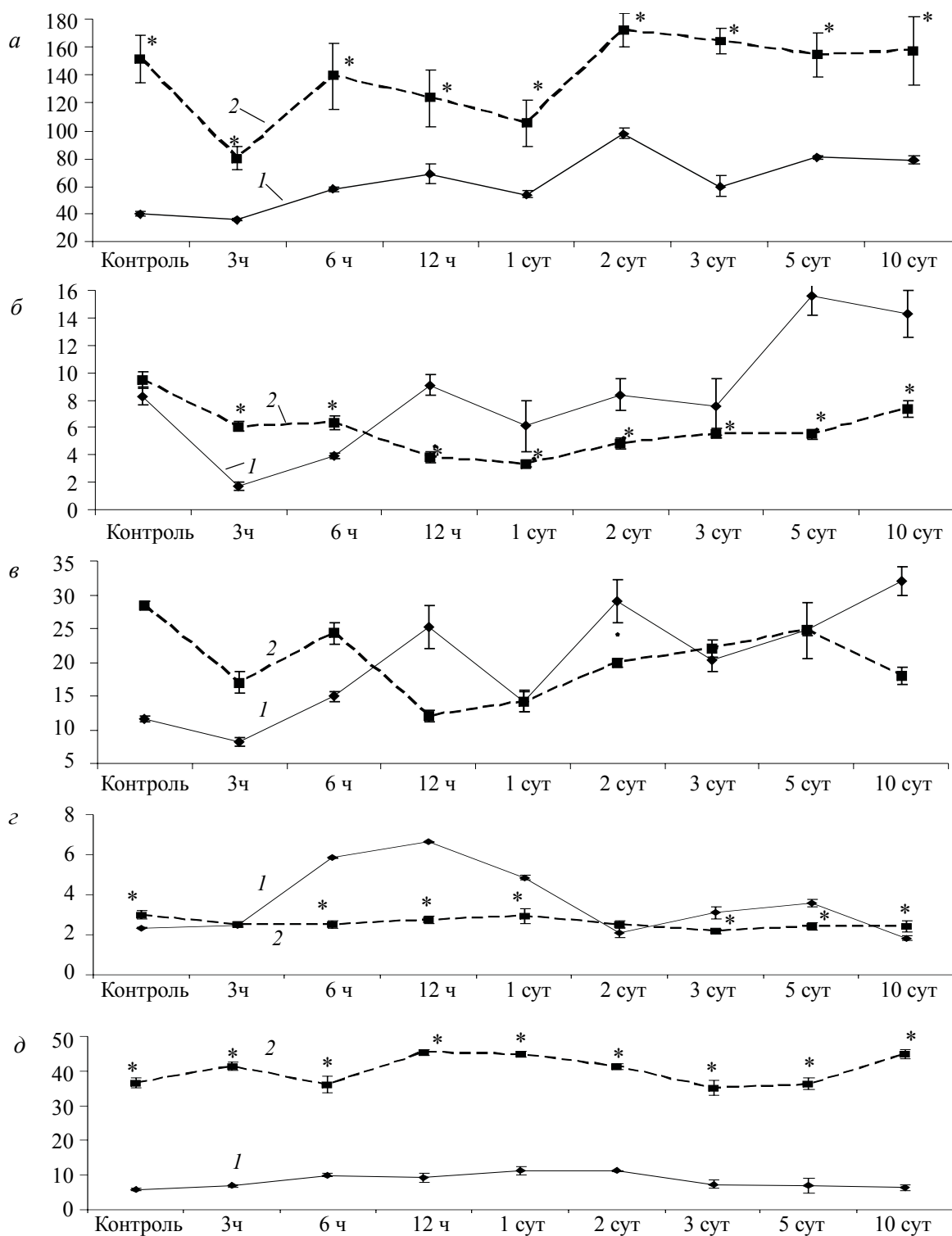


Рис. 3. Общее количество кариоцитов (а) и содержание незрелых (б) и зрелых (в) гранулоцитов, моноцитов (г) и лимфоцитов (д) (x10⁹) в костном мозге бедра крыс в динамике острого асептического перитонита при естественном развитии (1) и на фоне действия норбинаторфимина (2); *p > 0,01

цитов преобладало в контрольной группе на 10-е сутки и уменьшалось на 6-й и 12-й час, 1-е, 3-и и 5-е сутки (рис. 3, г), количество лимфоцитов было существенно больше в группе контроля во все сроки исследования

(рис. 3, д). Все это свидетельствует о снижении выхода в кровь и затем в очаг в первую очередь лимфоцитов и в меньшей мере нейтрофилов, а также об увеличении выхода моноцитов.

При остром асептическом воспалении на фоне действия норбинаторфимина общее количество лейкоцитов в периферической крови несколько уменьшалось на 3-й час и 3-и сутки, достоверно на 2-е и 10-е сутки и было больше на 12-й час по сравнению с таковым при естественном ходе воспаления (рис 4, *а*). Содержание сегментоядерных нейтрофилов преобладало в группе контроля, несколько снижалось на 3-й час и 2-е сутки и увеличивалось на 5-е сутки (рис. 4, *б*). Число моноцитов увеличивалось на 3-й и 6-й час и 1-е сутки, снижалось на 2-е сутки и было

достоверно выше на 12-й час (рис. 4, *в*). Количество лимфоцитов периферической крови было достоверно ниже на 6-й час, 3-и и 10-е сутки (рис. 4, *г*).

Полученные результаты подтверждают снижение выхода в кровь и затем в очаг лимфоцитов, нейтрофилов и увеличение выхода моноцитов.

Анализ функционального состояния лейкоцитов периферической крови показал, что активность МПО в нейтрофилах была достоверно меньше на 3-й и 12-й час и больше на 3-и и 5-е сутки (рис. 5, *а*), активность КФ

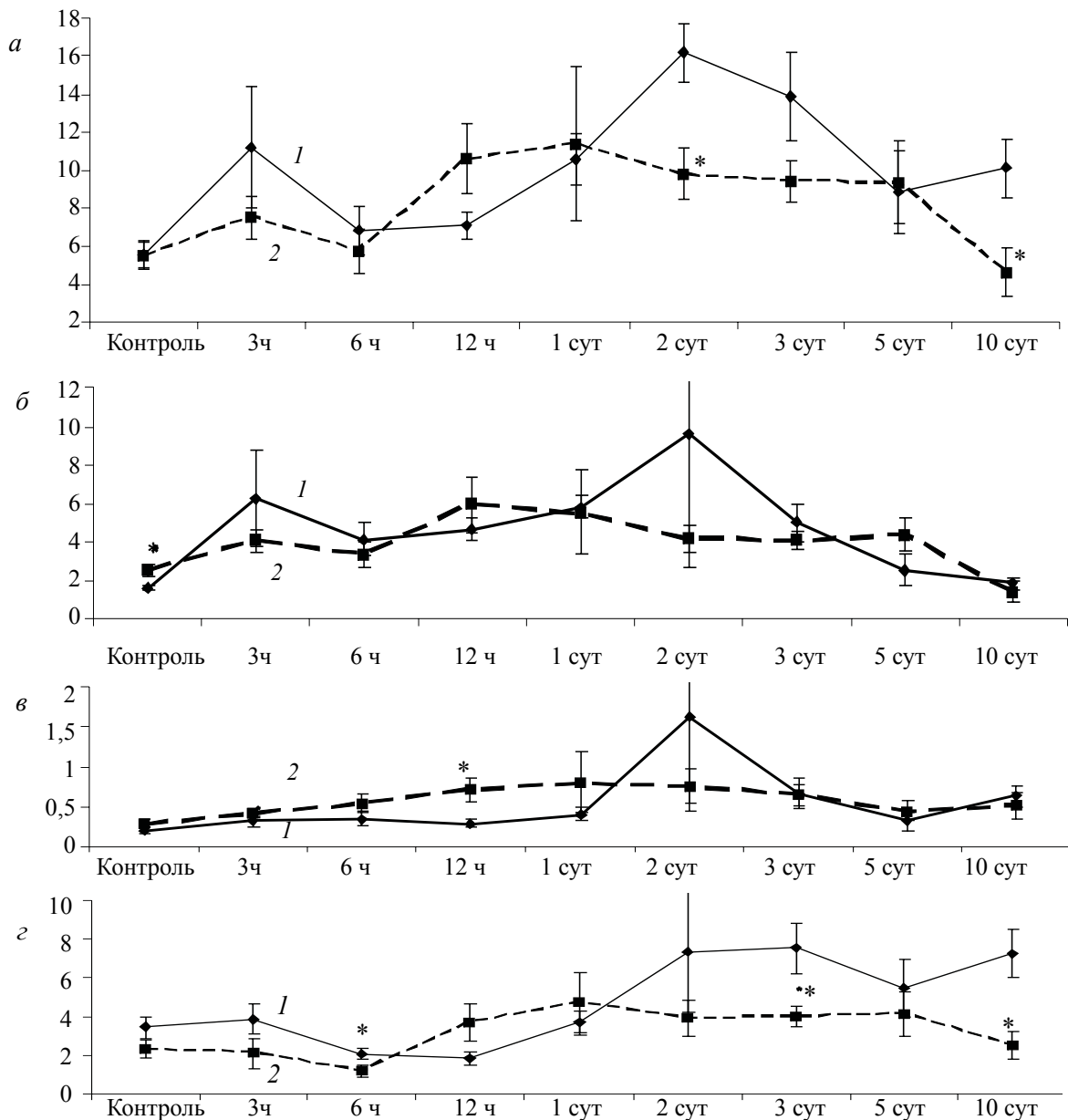


Рис. 4. Общее количество лимфоцитов (*а*) и содержание сегментоядерных нейтрофилов (*б*), моноцитов (*в*) и лимфоцитов (*г*) ($\times 10^9$) в периферической крови крыс в динамике острого асептического перитонита при естественном развитии воспаления (*1*) и на фоне действия норбинаторфимина (*2*); * $p > 0,01$

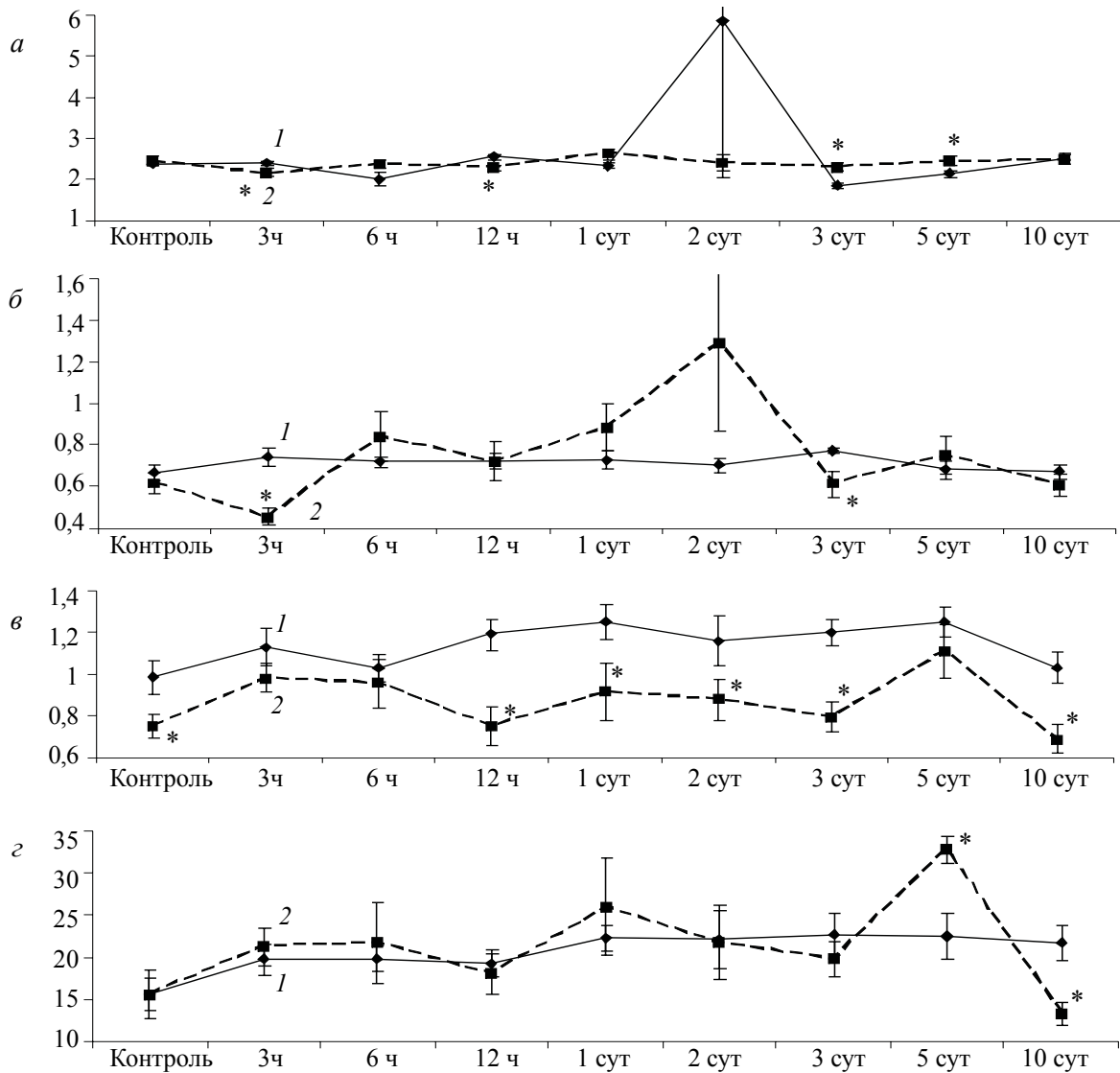


Рис. 5. Активность миелопероксидазы (а) и кислой фосфатазы (б) в нейтрофилах, α -нафтилацетат-эстеразы в моноцитах (в) (в СЦК) и лимфоцитах (г) (в %) периферической крови крыс в динамике острого асептического перитонита при естественном развитии воспаления (1) и на фоне действия норбинаторфимина (2); *p > 0,01

меньше на 3-й час и 3-и сутки (рис 5, б), а активность α -НАЭ в моноцитах меньше, чем в контроле, во все сроки исследования, из них достоверно на 12-й час, 1-е, 2-е, 3-и и 10-е сутки (рис 5, в). Количество лимфоцитов, содержащих α -НАЭ, было достоверно больше на 5-е и меньше на 10-е сутки (рис. 5, г). Динамика количества лейкоцитов в периферической крови отражает изменения функциональной активности ферментов в нейтрофилах и лимфоцитах, которая в основном обусловлена снижением их выхода из костного мозга в кровь, а в моноцитах – усиленную их дегрануляцию, то есть повышение функциональной активности.

Таким образом, при остром воспалении на фоне действия НТ-селективного блокатора опиоидных k-рецепторов угнеталась нейтрофильная и лимфоцитарная реакция, а усиливалась моноцитарная, что сопровождалось нарушением аккумуляции лейкоцитов в очаге и изменением функциональной активности клеток, а также снижением их выхода из костного мозга в кровь. Последнее свидетельствует о том, что опиоидные k-рецепторы опосредуют обратные явления – усиление лимфоцитарной и нейтрофильной и угнетение моноцитарной реакции. Следует заметить, что при воспалении на фоне действия неселективного ингибитора опиоидных рецепторов налоксона

нейтрофильная реакция характеризовалась пролонгированием нейтрофильной инфильтрации в очаге [2], что касается лимфоцитарной реакции, то она кроме k-рецепторов опосредуется также μ - и (или) δ -рецепторами, так как введение даларгина – синтетического аналога лейэнкефалина, являющегося неселективным лигандом периферических μ - и δ -опиоидных рецепторов, приводило к значительному усилению лимфоцитарной реакции.

Литература

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 // Международная конференция «Проблемы загрязнения окружающей среды – 2005»: Тез. научн. конф. – Пермь, 2005. – С. 56.
2. Lesniak A. Opioid peptides in peripheral pain control / A. Lesniak, A. W. Lipkowski // Acta Neurobiol Exp. – 2011. – Vol. 71. – P. 129–138.
3. Stress-induced analgesia and endogenous opioid peptides: the importance of stress duration / D. Parikh, A. Hamid, T.C. Friedman, et al. // Eur. J. Pharmacol. – 2011. – Vol. 650. – P. 563–567.
4. Efficacy of on-demand asimadoline, a peripheral kappa-opioid agonist, in females with irritable bowel syndrome / L.A. Szarka, M. Camilleri, D. Burton, et al. // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2007. – Vol. 5. – P. 1268–1275.
5. Клименко Н.А. Влияние налоксона на реакции системы крови при воспалении / Н.А. Клименко, Е.Ю. Литвиненко // Медицина сьогодні і завтра. – 2004. – № 4. – С. 76–80.
6. Клименко Н.А. Влияние даларгина на реакции системы крови при воспалении / Н.А. Клименко, Е.Ю. Литвиненко // Медицина сьогодні і завтра. – 2007. – № 2. – С. 4–11.
7. 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.
8. Лабораторные методы исследования в клинике : Справочник / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

О.Ю. Литвиненко

РЕАКЦІЇ СИСТЕМИ КРОВІ ПРИ ГОСТРОМУ ЗАПАЛЕННІ НА ТЛІ БЛОКАДИ ОПІОЇДНИХ K-РЕЦЕПТОРІВ НОРБІНАЛТОРФІМІНОМ

Використання селективного блокатора опіоїдних k-рецепторів норбіналторфіміну у щурів з гострим асептичним перитонітом, викликаним внутрішньочеревним введенням λ -карагінену в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію, показало, що ендogenous опіоїди через k-рецептори опосередковують посилення більшою мірою лімфоцитарної, частково нейтрофільної, пригнічення моноцитарної реакцій, що при запаленні характеризується відповідним порушенням акумуляції лейкоцитів у вогнищі і зміною функціональної активності клітин, а також їх виходом з кісткового мозку в кров.

Ключові слова: гостре запалення, система крові, опіоїдні k-рецептори.

Ye.Ju. Litvinenko

REACTIONS OF THE BLOOD SYSTEM IN ACUTE INFLAMMATION ON THE BACKGROUND BLOCKADE OF THE K-OPIOID RECEPTORS BY NORBINALTORFIMIN

Using selective blocker k-opioid receptor Norbinaltorfimin in rats with acute aseptic peritonitis caused by intraperitoneal administration of λ -karaginen in 1 ml of isotonic sodium chloride solution, showed that endogenous opioids through k-receptors to mediates amplification largely lymphocytic, partly neutrophilic, inhibition of monocytic reactions, which is characterized by corresponding disturbance of leukocytes accumulation in the focus of inflammation and changes of the functional activity of cells, as well as their release from the bone marrow into the blood.

Key words: acute inflammation, blood system, opioid k-receptors.

Поступила 14.05.15