

С.Н. Серебренникова¹, И.Ж. Семинский¹, И.В. Клименков², Н.В. Семенов¹**КЛЕТОЧНЫЕ РЕАКЦИИ И МЕХАНИЗМЫ ИХ РЕГУЛЯЦИИ В ОЧАГЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АСЕПТИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ**¹ Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)² Лимнологический институт СО РАН (Иркутск)

В статье представлены показатели клеточных фаз экспериментального асептического воспаления с определением уровней интерлейкина-1 β , интерлейкина-10, кортикостерона. Выявлено, что очаг асептического воспаления характеризуется последовательной сменой клеточных популяций, регуляцию которых осуществляют IL-1 β , IL-10, кортикостерон, и к 20 суткам процесс воспаления завершается образованием плотной соединительнотканной капсулы.

Ключевые слова: асептическое воспаление, интерлейкины, кортикостерон, регуляция

**THERE ARE CELL'S REACTIONS AND REGULATORY MECHANISMS
AT THE EXPERIMENTAL ASEPTIC INFLAMMATION**S.N. Serebrennikova¹, I.Zh. Seminsky¹, I.V. Klimenkov², N.V. Semenov¹¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk² Institute of Limnology SB RAS, Irkutsk

The characteristics of cell's phases experimental aseptic inflammation with indicate levels of interleukin-1 β , interleukin-10, corticosterone are presented. The area of aseptic inflammation have logical relay of cell's populations, IL-1 β , IL-10, corticosterone are regulate cell's processes. And by 20 days inflammatory process complete formation dense connective capsule.

Key words: aseptic inflammation, interleukins, corticosterone, regulation

Воспаление является универсальной защитно-приспособительной компенсаторной реакцией, развивающейся в ответ на повреждение [2, 5] и относящейся к филогенетически старейшим типам защитных реакций организма [3]. Воспалительный процесс относится к адаптивным и индуктивным процессам, зависящим от суммы клеточных и гуморальных факторов, образование которых требует активной работы клеток, проявляющейся в синтезе молекул, направленных на возбуждение, развитие и купирование воспалительной реакции [4]. Цитокины являются важнейшими медиаторами воспалительного ответа [6], мощными иммунорегуляторными, про- и противовоспалительными агентами [1], изучение которых в последнее время приобретает особую актуальность.

Целью настоящей работы явилось изучение основных показателей клеточных реакций в очаге экспериментального асептического воспаления и механизмов их регуляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 120 беспородных белых крысах-самцах массой 180–220 г в осенне-зимний период. Асептическое воспаление у животных, находящихся под легким эфирным наркозом, моделировали с помощью введения под кожу бедра диффузионной камеры собственной конструкции (патент № 5030684(010989) от 04.03.1992), заполненной физиологическим раствором и изготовленной из миллипорового фильтра (SYNPOR, Чехия) размером 1 × 3 мм, объемом 2,5 мм³. Через 12 ч, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 60 суток от начала воспаления

у крыс производился забор образцов тканей с камерами для изготовления гистологических препаратов, окрашиваемых гематоксилин-эозином. На микропрепаратах на светооптическом уровне при помощи окуляра-микрометра и сетки Автандилова морфологически оценивали динамику клеточных реакций. Количественно регистрировали толщину лейкоцитарного вала вокруг стенки камеры, концентрацию клеток в вале, толщину фибробластической капсулы вокруг лейкоцитарного вала, число слоев фибробластов, концентрацию фибробластов в капсуле. У животных определяли уровень интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-10 (IL-10), кортикостерона через 12 ч, 1, 2, 3, 5 суток от начала воспалительного процесса с помощью иммуноферментного анализа. Для определения цитокинов у крыс использовались тест-наборы «Rat IL-1 β ELISA BMS630» и «Rat IL-10 ELISA BMS629» (Bender MedSystems, Vienna, Austria), кортикостерона — «Reagents for rat corticosterone ELISA» (Sigma, USA). Группу сравнения составили 10 здоровых интактных белых крыс-самцов.

Работа проводилась с учетом требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях, и была одобрена этическим комитетом ИГМУ.

Статистический анализ результатов производили с помощью пакета компьютерных программ BioStat, Microsoft Excel 2003, 2007 для Windows XP. Для показателей определялись среднее арифметическое (M), среднее квадратичное отклонение (s), коэффициенты корреляции (r). Сравнение средних

значений независимых выборок при их нормальном распределении осуществляли по t-критерию Стьюдента и F-критерию Фишера. Для проверки соответствия распределения выборочных значений закону нормального распределения применяли критерий Колмогорова-Смирнова. В условиях неподчинения закону нормального распределения применяли U-критерий Манна — Уитни. Различия величин признавали статистически значимыми при критическом уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В течение первых суток экспериментального асептического воспаления вокруг стенок камер формировался лейкоцитарный вал толщиной 150 ± 8 мкм с плотностью клеток 28 ± 4 на 1000 мкм² с преобладанием нейтрофилов. Нейтрофилы интенсивно захватывали продукты разрушенных тканей с последующим их массовым аутолизом вследствие незавершенного фагоцитоза. На 2—3-е сутки воспалительного процесса происходило уменьшение толщины лейкоцитарного вала вокруг стенок камер до 62 ± 6 мкм. В нем начинали преобладать макрофаги, которые активно фагоцитировали нейтрофильный детрит, очищая зону повреждения и подготавливая ее к дальнейшему фиброзированию. Начиная с 3-х суток асептического воспаления происходило постепенное замещение макрофагов в клеточном вале на фибробласты, которые формировали соединительнотканную капсулу вокруг стенок камер, достигшую максимальной толщины к 10-м суткам — 100 ± 15 мкм. Капсула имела 8—10 слоев фибробластов, синтезировавших коллаген и гликозаминогликаны. В дальнейшие сроки наблюдения происходила организация фибробластической капсулы: уменьшалась ее толщина до 50 ± 7 мкм, фибробласты превращались в фиброциты, снижалась их синтетическая активность, внутрь капсулы прорастали новые капилляры.

Через 12 ч после введения камер с физиологическим раствором содержание IL-1 β в плазме крови крыс составляло $1,7 \pm 0,4$ пг/мл с дальнейшим падением его уровня: через 1 сутки — $1,2 \pm 0,2$, через 2 суток — $0,8 \pm 0,2$ пг/мл. Начиная с 3-х суток IL-1 β в плазме крови не определялся. Концентрация IL-10 через 12 ч от начала асептического воспаления в плазме крови животных снижалась относительно фоновых показателей до $3,6 \pm 0,6$ пг/мл ($p < 0,05$), в последующие сроки исследования уровень IL-10 медленно повышался, однако к 5-м суткам не достигал фоновых показателей (1-е сутки — $10,3 \pm 1,4$; 2-е сутки — $13,1 \pm 1,7$; 3-и сутки — $15,2 \pm 1,6$; 5-е сутки — $15,6 \pm 3,2$ пг/мл). Подъем уровня кортикостерона в плазме крови животных, по сравнению с фоновыми показателями, до $47,8 \pm 4,3$ нмоль/л регистрировался через 12 ч после имплантации камер с физиологическим раствором. Затем концентрация кортикостерона плавно снижалась к 5-м суткам: 1-е сутки — $39,2 \pm 3,7$; 2-е сутки — $40,9 \pm 4,1$; 3-е сутки — $34,2 \pm 7,2$; 5-е сутки — $28,0 \pm 5,6$ нмоль/л.

Фоновые показатели исследуемых регуляторных веществ в плазме крови здоровых

интактных крыс составляли: IL-1 β — 0 пг/мл, IL-10 — $22,9 \pm 4,3$ пг/мл, кортикостерон — $37,2 \pm 3,2$ нмоль/л.

С 12 ч от начала экспериментального асептического воспаления регистрировалась противоположная картина в уровнях интерлейкинов: IL-1 β снижался на фоне увеличения IL-10. Можно предположить, что такая взаимосвязь между одними из ведущих про- и противовоспалительных цитокинов при остром асептическом воспалении является оптимальной для своевременного завершения воспалительного процесса. Максимум концентрации кортикостерона в плазме крови крыс с асептическим воспалением имелся также на срок 12 ч от начала воспалительного процесса с последующим снижением до фоновых показателей. На этом же сроке определялся самый высокий уровень IL-1 β в плазме крови крыс, следовательно, можно предположить, что продукция данного цитокина индуцировала синтез кортикостерона. В дальнейшем, по-видимому, проявилось ингибирующее действие глюкокортикоида на образование IL-1 β , который через 3 суток от момента имплантации камер в плазме крови крыс уже не обнаруживался. Со стороны IL-10 и кортикостерона регистрировалась другая картина. По нашему мнению, усиленное образование кортикостерона привело к активации синтеза противовоспалительного IL-10, концентрация которого в плазме крови стала увеличиваться с момента максимального уровня глюкокортикоида у экспериментальных животных.

Корреляционный анализ между показателями клеточных реакций в очаге асептического воспаления и содержанием в плазме крови интерлейкинов и кортикостерона показал, что толщина лейкоцитарного вала зависит от уровня IL-1 β ($r = 0,6$; $p < 0,05$), толщина фибробластической капсулы взаимосвязана с уровнем IL-10 ($r = 0,7$; $p < 0,05$). IL-1 β и IL-10 являются антагонистами ($r = -0,9$; $p < 0,05$). Чем выше уровень кортикостерона, тем меньше толщина фибробластической капсулы ($r = -0,9$; $p < 0,05$).

Таким образом, в очаге экспериментального асептического воспаления лейкоцитарная фаза протекает в течение 1-х суток, макрофагическая — 2—3 суток, фибробластическая — 3—20 суток от момента повреждения, следовательно, происходит своевременная смена клеточных популяций, оптимально выполняющих свои функции, что обеспечивается регулирующим действием IL-1 β , IL-10, кортикостерона на формообразовательные процессы в очаге воспаления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борщикова Т.И., Епифанцева Н.Н., Чурляев Ю.А. Функциональный профиль цитокинов и иммунологическая дисфункция у нейрореанимационных больных // Цитокины и воспаление. — 2011. — Т. 10, № 2. — С. 42—49.
2. Куликова А.Н. Роль воспаления в атерогенезе при сахарном диабете // Цитокины и воспаление. — 2007. — Т. 6, № 3. — С. 14—20.

3. Лысикова М., Вальд М., Масиновски З. Механизмы воспалительной реакции и воздействие на них с помощью протеолитических энзимов // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 3. — С. 48–53.

4. Маянский А.Н., Маянский Н.А., Заславская М.И. Нуклеарный фактор-кВ и воспаление // Цитокины и воспаление. — 2007 — Т. 6, № 2. — С. 3–9.

5. Семинский И.Ж. Закономерности развития разных форм воспаления // Вестн. ИрГТУ. — 2003. — № 2 (14). — С. 54–58.

6. Таджиханова Д.П. Эффективность комплексной терапии у детей с микоплазменной пневмонией, ассоциированной с герпесвирусной инфекцией // Цитокины и воспаление. — 2010. — Т. 9, № 4. — С. 41–46.

Сведения об авторах

Серебренникова Светлана Николаевна – ассистент кафедры патологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии ИГМУ (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел.: (3952) 24-07-65, сот. тел.: 89086476376; e-mail:)

Семинский Игорь Жанович – заведующий кафедрой патологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии ИГМУ, доктор медицинских наук, профессор (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел.: (3952) 24-07-65; e-mail: igorsemin59@mail.ru)

Клименков Игорь Викторович – старший научный сотрудник отдела «Ультраструктуры клетки» ЛИН СО РАН, кандидат биологических наук, доцент (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3; тел.: (3952) 42-32-80; e-mail: iklimen@mail.ru)

Семенов Николай Владимирович – старший преподаватель кафедры нормальной физиологии ИГМУ, кандидат медицинских наук, доцент (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 3; тел.: (3952) 24-07-72)