

М. О. Клименко, Н. П. Субота, В. А. Пітько, С. В. Татарко

Вплив кріоекстракту хоріона на клітинні реакції вогнища запалення

На моделі карагіненового острого асептичного перитонита у крыс показано, що при воспалении на фоне введения криоэкстракта хориона наблюдается заметное угнетение нейтрофильной реакции и стимуляция макрофагально-фибробластической реакции, а также более раннее завершение воспаления, то есть криоэкстракт хориона обладает выраженным противовоспалительным действием, которое во многом реализуется путем угнетения патологических и стимуляции защитно-приспособительных реакций системы крови.

Вступ

Значний інтерес становить перспектива створення нового класу лікарських сполук на основі фетальних тканин людини і тварин [20]. Дослідження *in vitro* на кріоконсервованих тканинах і клітинах, а також *in vivo*, у тому числі під час різних патологічних процесів, показують, що фетальні препарати є ефективними біостимуляторами [23]. Зокрема, встановлена їх проти-запальна та знеболююча, протипухлинна, імунокоригуюча, радіопротекторна дія [19]. Солкосерил (фірми «Alkaloid», Сербія) та препарат «екстракт плаценти» застосовуються в клінічній практиці як протизапальні засоби. Перспективним у цьому відношенні може бути новий препарат — кріоекстракт хоріона [21, 22], оскільки встановлено, що за деякими показниками гормонального спектру він має перевагу над екстрактом плаценти. Так, вміст прогестерону в кріоекстракті хоріона у 8 разів більший, ніж в екстракті плаценти [24]. Поряд з тим, істотне значення має дослідження саме кріоекстрактів тканинних препаратів як основи розробки надійних методів збереження біологічних властивостей тканин і використання низьких температур — фактора, який екстрагує біологічно активні речовини [21, 22]. Наявність у фетальних тканинах, як і в тканинних препаратах загалом, великої кількості біологічно активних речовин дійсно відповідає вже доведеної значній біостимулюючій дії цих екстрактів. Показано активуючий вплив тканинних препаратів на нервову систему — посилення процесів збудження та гальмування, покращання рефлекторної діяльності, знеболююча дія; на ендокринну систему, на ферментні системи енергетичного, білкового (активація біосинтезу білка) та інших видів обміну речовин [16]. Останнім часом встановлено антиоксидантний ефект різних тканинних препаратів [19]. Конкретні механізми їх дії, у тому числі протизапальної, вивчені мало.

Враховуючи, що основним показником інтенсивності запалення, ефективності протизапальних засобів і відповідної терапії є вираженість і динаміка лейкоцитарної інфільтрації [5], метою нашої роботи було вивчення

© М. О. Клименко, Н. П. Субота, В. А. Пітько, С. В. Татарко

механізмів протизапальної дії кріоекстракту хоріона та його впливу на клітинні реакції вогнища запалення.

Методика

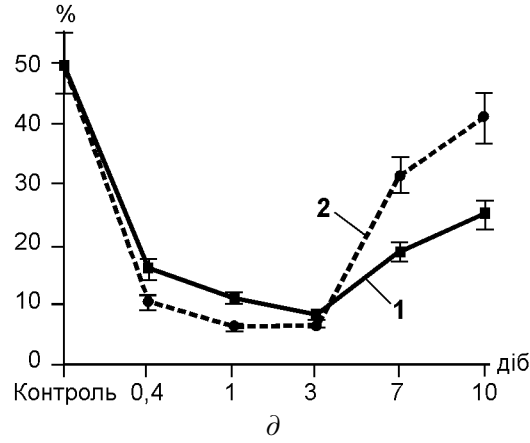
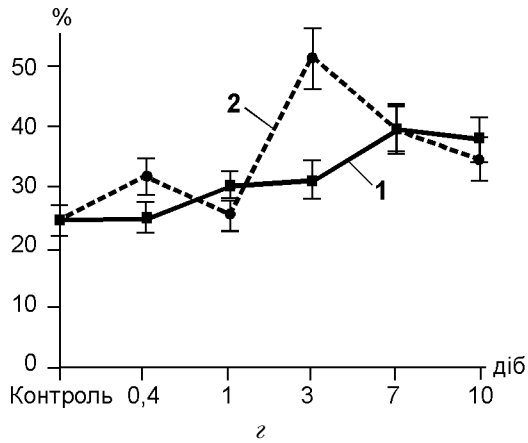
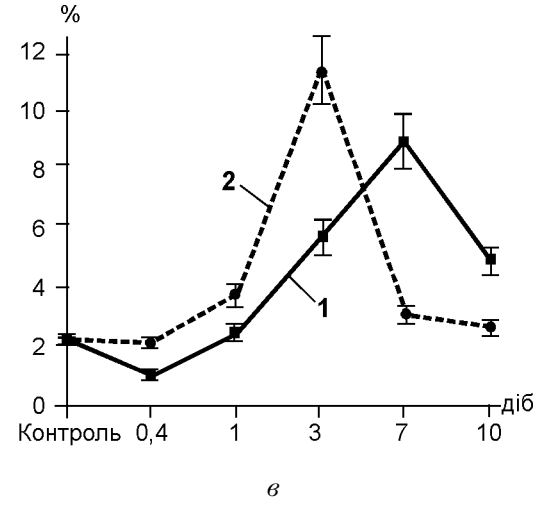
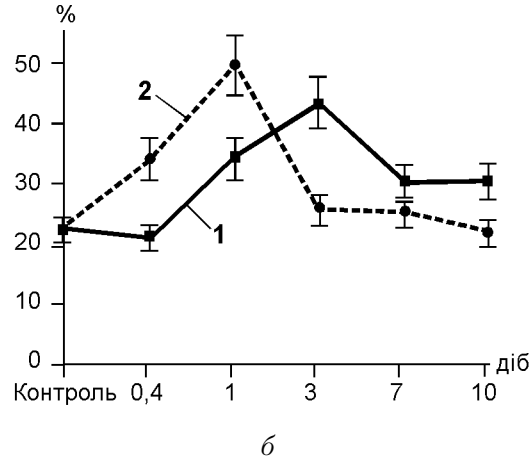
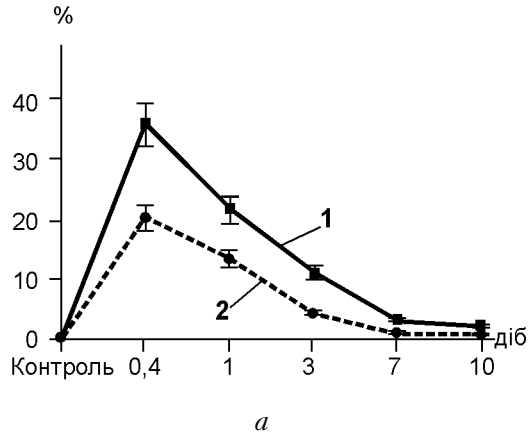
Досліди виконані на 66 щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г. Моделлю запалення був гострий асептичний перитоніт, який викликали нутрішньочеревним введенням 5 мг λ -карагінену (фірми «Sigma», США) в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. Тварин декапітували на 6-ту годину, 1, 3, 7 та 10-ту добу [4]. Клітинні реакції вогнища запалення вивчали на плівкових препаратах брижі тонкої кишки. Шматочки брижі фіксували 2–3 год у рідині Карнуа, промивали у двох порціях 96%-го спирту, розправляли на предметному склі і висушували. Після видалення жирової тканини препарати забарвлювали гематоксиліном-еозином за загальноприйнятою методикою [14], просвітлювали ксиолом, і погрузали у в'язкий полістирол. При збільшенні $\times 900$ на 500 клітин підраховували частку нейтрофілів, моноцитів-макрофагів, незрілих і зрілих фібробластів, фіброцитів [10, 18].

Кріоекстракт хоріона отримували за методом Суботи та співавт. [21] і вводили нутрішньом'язово у дозі 1 мл, з вмістом білка 1,2 мг/мл. Перше введення препарату здійснювали відразу після моделювання запалення, а потім — на 3-тю і 7-му добу.

Результати та їх обговорення

За природного розвитку карагіненового гострого асептичного перитоніту частка нейтрофілів у запаленій тканині брижі сягала максимуму на 6-ту годину, потім швидко зменшувалась, але була більшою від вихідної на 10-ту добу. Кількість моноцитів-макрофагів значно підвищувалася на 1-шу добу, досягаючи максимального значення на 3-тю добу, а потім почала зменшуватися. Число незрілих фібробластів на 3-тю добу збільшувалося і було максимальним на 7-му, а на 10-ту зменшилося до рівня 3-ї доби. Кількість зрілих фібробластів збільшувалося до 7-ї доби і залишалось приблизно на тому ж рівні на 10-ту. Частка фіброцитів спочатку значно зменшувалася (на 6-ту годину, 1-шу та 3-тю добу), потім дещо відновлювалася, але на 1-шу добу була значно меншою від вихідного значення (рисунок).

При запаленні на фоні введення кріоекстракту хоріона нейтрофільна реакція за динамікою була подібною до такої за умов природного розвитку запалення, але менш вираженою і завершувалася раніше — на 7-му добу. Максимальна кількість моноцитів-макрофагів була на 1-шу добу. Відповідно, через 1 добу їх число було значно більшим, а в інші терміни — меншим за таке при звичайному перебігу запалення, і макрофагальна реакція практично завершувалася уже на 7-му добу. Максимальна кількість незрілих і зрілих фіброцитів спостерігалася на 3-тю добу (замість 7-ї); при цьому частка незрілих фібробластів майже поверталася до вихідного значення на 7-му добу. Динаміка числа фіброцитів була подібною до такої за умов природного розвитку запалення, однак відновлення їх кількості на 7-му та 10-ту добу було більш помітним (див. рисунок). Крім того, якщо за звичайного перебігу запалення максимальний розвиток грануляційної тканини відзначався на 7-му — 10-ту добу, і структура брижі ще не відновлювалася на 10-ту, то



Кількість (%) нейтрофілів (а), моноцитів-макрофагів (б), незрілих (в) і зрілих (z) фібробластів і фіброцитів (д) у брижі в динаміці карагієнового гострого асептичного перитоніту у щурів за умов природного розвитку запалення (1) та на фоні введення криоекстракту хоріона (2).

при запаленні за умов застосування кріоекстракту хоріона максимальний розвиток грануляційної тканини спостерігався з 3-ї по 7-му добу, а її дозрівання та відновлення структури брижі практично повністю завершувалося на 10-ту добу.

Таким чином, введення кріоекстракту хоріона призводить до помітного пригнічення нейтрофільної реакції та швидкого завершення запалення, тобто кріоекстракт хоріона має виражені протизапальні властивості.

Зважаючи на те, що нейтрофіли та моноцити-макрофаги відіграють головну роль у розгортанні і вщуханні запальної реакції відповідно, тобто перші є прозапальними, а другі — протизапальними «клітинами запалення», можна вважати, що протизапальна дія кріоекстракту хоріона полягає у обмеженні альтеративних і посиленні репаративних явищ і багато в чому реалізується пригніченням патологічних і посиленням захисно-приспосувальних реакцій крові [7]. Це підтверджується змінами у фібробластичній реакції — швидшим утворенням максимумів числа незрілих і зрілих фібробластів, завершенням фібробластичної реакції (швидшим поверненням до вихідної кількості незрілих, більш функціонально активних, фібробластів і випереджаючим відновленням частки фіброцитів), більш швидким розвитком грануляційної тканини, її дозріванням та відновленням структури брижі.

Механізм протизапального впливу кріоекстракту хоріона, мабуть, пов'язаний з впливом гормонів, які містяться у цьому кріоекстракті, — хоріонічного гонадотропіну, пролактину, естрадіолу та прогестерону [24] — і є, в цілому, протизапальними. Гормони впливають на «клітини запалення» (лейкоцити, тканинні макрофаги, фібробласти, тучні клітини, ендотеліоцити), кістковий мозок, мікроциркуляцію, як безпосередньо (через специфічні рецептори), так і опосередковано через медіатори і відповідні рецептори для останніх. В обох випадках вплив опосередковується змінами концентрації внутрішньоклітинних циклічних нуклеотидів, ферментних систем, іонів, функціонування іонних транспортних систем тощо.

Так, естрогени збільшують число моноцитів у крові і їх продукцію у кістковому мозку [17], проліферацію макрофагів [26] та їх функціональну активність [25]. Естрадіол гальмує синтез макрофагами макрокортину, який пригнічує вивільнення прозапальних арахідонової кислоти та ейкозаноїдів [15], що діють головним чином за допомогою лейкоцитарної інфільтрації [13]. Гормони є індукторами біосинтезу низки ферментних білків, які, у свою чергу, мають істотне значення в саморегуляції лейкоцитарної інфільтрації при запаленні внаслідок пригнічення захисно-приспосувальних реакцій системи крові [8]. Фібробласти мають рецептори для естрогенів і реагують на дію гормонів підвищенням синтезу білків [2]. Крім того, статеві гормони, зокрема естрогени, стимулюють проліферацію фібробластів [27].

Одним з можливих механізмів протизапальної дії кріоекстракту хоріона є посилення секреторної активності тучних клітин під впливом естрогену, що, у свою чергу, призводить до вивільнення гістаміну, серотоніну та гепарину, які у вогнищі запалення пригнічують функціональну активність нейтрофілів та стимулюють — моноцитів-макрофагів і фібробластів [9, 11]. Одночасно статеві гормони, через вазоактивні медіатори та модулятори запалення, регулюють мікроциркуляцію та підвищують судинну проникність

[3], що є сприятливою умовою лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення [6].

Як вказувалося, тканинним препаратом властивий виражений антиоксидантний ефект, і їх протизапальна дія, яка відображається у змінах клітинної динаміки вогнища запалення, може багато в чому бути пов'язана з усуненням прозапальної модуляції реакцій системи крові активними формами кисню та продуктами перекисного окислення ліпідів [12], внаслідок стимуляції фізіологічної антиокислювальної системи [1].

N. A. Klimenko, N. P. Subbota, V. A. Pit'ko, S. V. Tatarko

**INFLUENCE OF CRYOEXTRACT OF CHORION
ON THE CELLULAR REACTIONS OF AN INFLAMMATORY FOCUS**

On the model of carragenan – induced acute aseptic peritonitis in rats it is shown that in inflammation on the background of administration of chorion's cryoextract a marked inhibition of neutrophilic reaction and stimulation of macrophagic fibroblastic one, and earlier ending of inflammation is observed, i.e. cryoextract of chorion has an expressive anti – inflammatory action which is mainly realized by inhibition of pathologic reactions and stimulation of protective ones in the blood.

*Kharkov State Medical University Ministry of Public Health of Ukraine;
Institute of the Cryobiology and Cryomedicine Problems,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Аряев Н.Л.* Хемилюминисценция плазмы крови и активность супероксиддисмутазы у детей первого года жизни, больных пневмонией, в условиях антиоксидантной и тканевой терапии. – В кн.: Тканевая терапия. – Одесса, 1983. – С.10-12.
2. *Гвоздова М.Д., Панасюк А.Ф., Кашникова Л.Н.* Влияние эстрадиола на культивируемые фибробласты кожи и содержание половых стероидных гормонов в крови женщин, страдающих системной склеродермией // *Терап. архив.* – 1984. – **56**, №5. – С.39-42.
3. *Караченцев А.Н., Серов П.В.* Вазоактивные эффекты половых гормонов // *Пробл. эндокринологии.* – 1997. – **43**, №2. – С.45-53.
4. *Клименко Н.А.* Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1993. – **116**, №9. – С.249-253.
5. *Клименко Н.А.* Общие принципы противовоспалительной терапии // *Харьк. мед.-журн.* – 1997. – № 4. – С.5-11.
6. *Клименко Н.А.* Современные аспекты общей патологии воспаления // *Экспер. і клін. мед.* – 1998. – № 1. – С.8-14.
7. *Клименко Н.А.* О единстве повреждения и защиты в воспалении // *Врач. практика,* 1998. – № 6. – С.4-8.
8. *Клименко М.О., Ліпищів Р.У., Татарко С.В. та ін.* Модуляція судинних та клітинних реакцій медіаторами запалення. Матеріали пленуму товариства патофізіологів України (м.Чернівці, 20-22 травня 1998 р.) // *Фізіол. журн.* – 1998. – **44**, № 4. – С.83.
9. *Клименко Н.А., Пышинов Г.Ю.* Механизмы модулирующего влияния тучных клеток на лейкоцитарную реакцию при воспалении // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1993. – **115**, № 1. – С.29-30.

10. Клименко Н.А., Татарко С.В. Роль тучных клеток в репаративных явлениях при воспалении // Там же. — 1995. — **119**, №3. — С.262-265.
11. Клименко Н.А., Татарко С.В. Механизмы стимулирующего влияния тучных клеток на репаративные процессы при воспалении // Морфология. — 1997. — **111**, № 2. — С.69-72.
12. Клименко М.О., Шевченко О.М. Роль активных радикалов кислорода в реакциях системы крови при запаленні // Фізіол. журн. — 1997. — **43**, № 5-6. — С.70-75.
13. Клименко Н.А., Шевченко А.Н. Роль эйкозаноидов в реакциях системы крови при воспалении // Доп. НАН України. — 1997. — № 10. — С.169-173.
14. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. — М.: Медгиз, 1961. — 341 с.
15. Осняч В.С. Возможные пути лекарственной регуляции макрофагов // Фармакология и токсикология. — 1986. — **49**, № 4. — С.115-120.
16. Пучковская Н.А., Гончаренко С.Н., Гончарук А.Н. и др. Тканевая терапия. — К: Здоров'я, 1975. — 208 с.
17. Ремизова В.А. Действие ДОКСА и эстрогенов на лейкоцитарную систему — В кн.: Проблемы реактивности и адаптации — Иркутск, 1982. — С.129-131.
18. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань: Функциональная морфология и общая патология. — М.: Медицина, 1981. — 312 с.
19. Суббота Н.П. Проблемы современной биологической // Пробл. криобиологии. — 1997. — № 4. — С. 3-14.
20. Суббота Н.П. Перспектива создания нового класса лекарственных соединений на основе фетального сырья // Провизор. — 1999. — № 2. — С. 35-36.
21. Суббота Н.П., Грищенко В.И., Питько В.А. и др. Получение, хранение и применение фрагментов, суспензий и кріоекстракта хоріона: Метод. рекомендації. — Харьков, 1996. — 8 с.
22. Суббота Н.П., Грищенко В.И., Питько В.А. Получение разнотканевых препаратов хоріона для экспериментальных и клинических целей // Врач. практика. — 1998. — № 6. — С.68-70.
23. Суббота Н.П., Пашинский П.П., Розанова Е.Д. Биологические свойства кріоекстрактов эмбриональных тканей // Пробл. криобиологии. — 1998. — № 3. — С.35-42.
24. Суббота Н.П., Питько В.А., Пашинский П.П. Гормональный спектр кріоекстрактов тотального эмбрионального препарата и плаценты разных сроков гестации // Там же. — 1999. — № 1. — С. 63-65.
25. Юрина Н.А., Радостина А.И. Коррелятивные отношения активности поверхности макрофагов и их лизосом в различных условиях функционирования. — В кн.: IV Всесоюз. конф. по патологии клетки. — М.: Изд-во АМН СССР. — 1987. — С.62.
26. Borman G.A., Luster M.I., Dean J.H. The effect of adult exposure to diethylstilbestrol in the mouse on macrophage function and numbers // J. Reticuloendothel. Soc. — 1980. — **28**, №6. — P.547-560.
27. Haslam S.Z., Levely M.L. Estrogen responsiveness of normal mouse mammary in primary cell culture: Association of mammary fibroblasts with estrogenic regulation of progesteron receptors // Endocrinology. — 1985. — **116**, № 5. — P. 1835-1844.

*Харків. мед. ун-т;
Ин-т проблем криобіології та
кріомедицини НАН України, Харків*

*Матеріал надійшов
до редакції 30.08.99*