

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ АКТИВАЦИИ КЛЕТОК НА УРОВЕНЬ СЕКРЕЦИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НЕЙТРОФИЛАМИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

THE EFFECT OF VARIOUS CELL ACTIVATION METHODS ON THE LEVEL OF SECRETION OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES BY HUMAN BLOOD NEUTROPHILS

I. Tretyakova

Summary. The article provides a comparative characteristic of the level of secretion of pro-inflammatory cytokines by human blood neutrophils using various methods of cell activation: in vitro (latex particles or adhesion on plastic), as well as in vivo (in conditions of acute purulent wound process). The results of the study showed that stimulation of human blood granulocytes by the above methods leads to a change in the levels of secretion of pro-inflammatory cytokines. These changes are unidirectional, but their severity varies.

Keywords: secretory products of neutrophils, pro-inflammatory cytokines, inducers of cell secretion.

Третьякова Ирина Евгеньевна

Доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ (г. Владикавказ)
tretjakova.60@mail.ru

Аннотация. В статье дана сравнительная характеристика уровня секреции провоспалительных цитокинов нейтрофилами крови человека при использовании различных способов активации клеток: в условиях in vitro (частицами латекса или адгезией на пластике), а также in vivo (в условиях острого гнойного раневого процесса). Результаты исследования показали, что стимуляция гранулоцитов крови человека вышеперечисленными способами приводит к изменению уровней секреции провоспалительных цитокинов. Эти изменения имеют однонаправленный характер, но степень их выраженности различна.

Ключевые слова: секреторные продукты нейтрофилов, провоспалительные цитокины, индукторы секреции клеток.

Введение

Проблема изучения нейтрофилов как клеток — продуцентов медиаторов межклеточных взаимодействий стала рассматриваться иммунологами лишь в последние годы [1,2]. Функциональные возможности нейтрофилов проявляются после их активации.

Данное исследование посвящено оценке влияния различных способов активации клеток на уровень секреции провоспалительных цитокинов нейтрофилами крови человека. Активацию нейтрофилов проводили в условиях in vitro (микросферами латекса или адгезией на пластике), и in vivo (в условиях острого гнойного раневого процесса).

Материалы и методы

Для осуществления поставленной цели медиаторы полиморфноядерных лейкоцитов в условиях in vitro выделяли при использовании двух индукторов секреции клеток: микросферы латекса диаметром 1,7 мкм и поверхность пластика. Выделение медиаторов нейтрофилов осуществляли из периферической крови 10 до-

норов. Получение медиаторов гранулоцитов доноров с использованием частиц полистирольного латекса проводили при помощи способа, разработанного И.И. Долгушиным и др. [3].

Для выделения медиаторов полиморфноядерных лейкоцитов доноров, активированных адгезией на пластмассовых лабораторных чашках Петри диаметром 40 мм, использовали метод, разработанный И.Е. Третьяковой [4].

Для получения продуктов секреции гранулоцитов из крови 10 пациентов с острым гнойным раневым процессом применяли метод, разработанный И.Е. Третьяковой [4].

В качестве контроля использовали супернатанты неактивированных полиморфноядерных лейкоцитов крови 10 доноров, которые получали без использования индукторов секреции клеток.

Медиаторы нейтрофилов, выделенные разными способами активации клеток, подвергали сравнительной оценке цитокинового состава. Для этого в супернатантах

гранулоцитов определяли наличие провоспалительных цитокинов: интерлейкинов (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-8) и фактора некроза опухоли α (ФНО- α). Выбор этих цитокинов для оценки их уровня в супернатантах гранулоцитов основан на том, что полиморфноядерные лейкоциты выполняют не только элиминирующую функцию, но и регулируют иммунологические процессы [1,2]. В связи с этим была поставлена задача определить содержание в медиаторах нейтрофилов провоспалительных цитокинов. С этой целью использовали соответствующие тест-системы для постановки твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы «Statistic for Windows».

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что активация гранулоцитов крови доноров *in vitro* (частицами латекса или адгезией на пластике) увеличивает секрецию полиморфноядерными лейкоцитами провоспалительных цитокинов. Исключение составило содержание ИЛ-1 α в супернатантах неактивированных и активированных латексом или адгезией гранулоцитов доноров, которое практически не менялось. Вероятно, кинетика накопления м-РНК для ИЛ-1 α при стимуляции гранулоцитов аналогична таковой при активации моноцитов — содержание м-РНК для ИЛ-1 α достигает максимума к 10–12 часам после стимуляции. Выделение же медиаторов нейтрофилов осуществляли через 1 час после инкубации в растворе Хенкса (супернатанты неактивированных нейтрофилов) или через такой же промежуток времени после стимуляции как частицами латекса, так и адгезией к поверхности пластика.

Кроме того установлено, что адгезия гранулоцитов доноров к пластику приводит к наиболее высокому уровню секреции ИЛ-1 β , ИЛ-8, ФНО- α . Вероятно, это можно объяснить тем, что адгезия полиморфноядерных лейкоцитов к поверхности пластика является наибольшим раздражающим фактором, так как увеличивается площадь соприкосновения поверхности клеток к пластику, что приводит к активации большего числа рецепторов, передающих сигнал о синтезе цитокинов на соответствующую м-РНК.

Необходимо отметить, что в супернатантах активированных *in vitro* нейтрофилов доноров отмечена наибольшая секреция ИЛ-8. Возможно, это происходит потому, что главное свойство ИЛ-8 — стимуляция направленной миграции нейтрофильных лейкоцитов. Известно, что после воздействия повреждающего фактора в ткани развивается острое воспаление, основными эффекторами которого являются гранулоциты и от реактивности кото-

рых во многом зависят развитие и исход воспалительного процесса.

Таким образом, при активации нейтрофилов доноров *in vitro* увеличивается секреция провоспалительных цитокинов, уровень которой зависит от индуктора секреции.

В остром периоде гнойного раневого процесса усиливается секреция нейтрофилами провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β (достоверно), ИЛ-8 и ФНО- α (тенденция) по сравнению с содержанием этих цитокинов в медиаторах неактивированных нейтрофилов крови доноров (табл.1).

Таблица 1.

Уровни провоспалительных цитокинов в супернатантах гранулоцитов, выделенных после стимуляции нейтрофилов в условиях *in vitro* и *in vivo* ($M \pm m$)

Цитокины	Медиаторы неактивированных и активированных in vitro нейтрофилов доноров			Медиаторы активированных in vivo нейтрофилов (n=10)
	Медиаторы неактивированных нейтрофилов доноров (n=10)	Медиаторы активированных in vitro нейтрофилов доноров		
		латекс (n=10)	адгезия (n=10)	
ИЛ-1α, пг/мл	51,3±3,5	53,5±6,1	63,1±5,3	45,1±1,8
ИЛ-1β, пг/мл	12,6±1,4	24,8±14,1	63,5±16,6 p ₁ = 0,0007 p ₂ = 0,004	20,5±13,7 p ₁ = 0,005
ИЛ-8, пг/мл	48,8±23,4	101,7±42,3	889,5±28,3 p ₁ = 0,0001 p ₂ = 0,0001	89,4±30,5
ФНО-α, пг/мл	4,6±0,27	6,2±0,85	163,1±43,3 p ₁ = 0,0001 p ₂ = 0,0001	8,1±1,32

Примечание: p_1 — достоверность различий показателей по отношению к медиаторам неактивированных нейтрофилов доноров; p_2 — достоверность различий показателей по отношению к медиаторам активированных *in vitro* нейтрофилов доноров (латекс).

Использован критерий Вилкоксона.

Таким образом, активация гранулоцитов крови человека *in vitro* (микросферами латекса или адгезией на пластике), *in vivo* (в условиях острого гнойного раневого процесса) приводит к изменению уровней выделения провоспалительных цитокинов. Эти изменения имеют однонаправленный характер, но степень их выраженности различна.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нейтрофильные гранулоциты как регуляторы иммунитета / А.С. Беляева, Л.В. Ванько, Н.К. Матвеева, Л.В. Кречетова // Журнал «Иммунология». 2016. 37(2). С.129–133.
2. Alberto Mantovani, Marco A. Cassatella, Sebastien Jaillon. Neutrophils in activation and regulation of innate and adaptive immunity // Nature Reviews Immunology. 2011. Vol.11. P.519–531.
3. Долгушин И.И., Зурочка А.В., Власов А.В. Способ получения иммуностимулирующих нейтрофилокинов // Патент РФ № 1536977. — 1987.
4. Третьякова И.Е. Роль секреторных продуктов нейтрофилов в регуляции локальных реакций воспаления и иммунитета.: дис. ... док. мед. наук: 14.00.36: утв. 02.04.2004. Челябинск, 2003. 407 с.

© Третьякова Ирина Евгеньевна (tretjakova.60@mail.ru)
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»