

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА КАВЕРГАЛ НА ФЕНОТИП И ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М.В. ЗАЛЯЛИЕВА¹, Н.Н. МИРАХМЕДОВА¹, З.И. АХМЕДЖАНОВА¹, З.А. ХУШБАКТОВА²

1 - Республиканский научный центр иммунологии МЗ РУз,

2 - Институт химии растительных веществ АН РУз (Ташкент)

ТАЖРИБА ШАРОИТИДА ЎТКИР ҚОН ЙЎҚОТИШДА КАВЕРГАЛ ДОРИ ВОСИТАСИНИНГ НЕЙТРОФИЛ ХУЖАЙРАЛАРИНИ ФЕНОТИПИ ВА ФАГОЦИТАР ФАОЛЛИГИГА КЎРСАТГАН ТАЪСИРИ

М.В. ЗАЛЯЛИЕВА¹, Н.Н. МИРАХМЕДОВА¹, З.И. АХМЕДЖАНОВА¹, З.А. ХУШБАКТОВА²

1 - ЎзР ФА Иммунология ва инсон геномикаси институти (Тошкент),

2 - ЎзР ФА Ўсимлик моддалари кимёси институти, (Тошкент)

THE INFLUENCE OF "CAVERGAL" ON THE PHENOTYPE AND PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILS DURING ACUTE BLOOD LOSS IN EXPERIMENT

M.V. ZALYALIEVA¹, N.N. MIRAKHMEDOVA¹, Z.I. AKHMEDJANOVA¹, Z.A. KHUSHBABACTOVA²

1 - Republican Scientific Center of Immunology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan,

2 - Institute of Chemistry of Plant Substances of the Academy of Sciences of Uzbekistan (Tashkent)

Ўткир қон йўқотиш сабабли кузатилган нейтропенияда маҳаллий Кавергал дори воситасинг нейтрофил хужайраларини функционал фаоллигига кўрсатган таъсири ўрганилди. Кавергални юзаки рецепторларга (CD16, CD45, CD95) кўрсатган мусбат ва ҳимояловчи таъсири аниқланди.

Калим сўзлар: юзаки рецепторлар, нейтрофиллар, фагоцитар фаолият, ўткир қон йўқотиш, тажриба.

We researched the influence of the "Cavergal" on the functional activity of neutrophils during neutropenia caused by acute blood loss. A positive and protective effect of a "cavergal" on surface receptors (CD16, CD45, CD95) and phagocytic activity of neutrophils was found.

Key words: surface receptors, neutrophils, phagocytic activity, acute blood loss.

Актуальность. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) являются уникальной, быстро реагирующей популяцией клеток иммунной системы, относящейся к врожденному иммунитету. НГ обладают важными функциональными возможностями, которые позволяют активировать и регулировать адаптивный иммунный ответ и воспаление [1, 3, 7, 9]. В настоящее время НГ признаны антиген-презентирующими клетками, способными к дифференцировке и активации ядра – реструктуризации хроматина, экспрессии многочисленных генов, синтезу и секреции цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и различных пептидов [2, 3, 4, 9, 10]. Широкие функциональные возможности НГ реализуются благодаря мощному рецепторному аппарату, обеспечивающему взаимосвязь как непосредственно в системе НГ, так и с клетками эндотелия, эпителия, иммунной системы и различными тканями. НГ оснащены богатым репертуаром рецепторов, которые позволяют реагировать на малейшие изменения иммунного гомеостаза.

На мембране НГ экспрессируется комплекс адгезионных молекул, рецепторов к различным лигандам: цитокинам, иммуноглобулинам, мембранным молекулам других клеток, различных антигенных детерминант (МНС1; селектины и их рецепторы; интегрины и их рецепторы; рецепторы для хемокинов, Fc- рецепторы, CD116, CD18, CD10, CD15, CD16, CD32, CD64 и др. [2, 3, 7, 9].

Фагоцитарная и микробицидная функции НГ, в том числе и вирусоцидная, находятся в непосредственной зависимости от фенотипических особенностей: количества и плотности экспрессируемых рецепторов.

Функциональные возможности нейтрофильных гранулоцитов определяются их внутриклеточными метаболическими процессами, среди которых ключевую роль ведут процессы свободнорадикального окисления и образования активных форм кислорода. Предупреждение свободнорадикальных реакций осуществляет антиоксидантная система организма, препятствующая каскадному радикалообразованию в иммунокомпетентных клетках, прежде всего в фагоцитах [1, 6, 8]. Подобная взаимосвязь иммунной и антиоксидантной систем определяет надежность их совместной деятельности [6, 8].

Но любое изменение одной системы обязательно приводит к изменениям в другой, что требует соответствующей коррекции. Препарат Кавергал обладает антигипоксическим, кардиопротекторным и антисклеротическим действием. Экспериментальными исследованиями установлено, что Кавергал по антиоксидантному эффекту и влиянию на NO-эргическую систему животных с изадриновым некрозом был вполне сопоставим с милдронатом [5].

Цель исследования: изучить влияние препарата Кавергал на фенотип и фагоцитарную ак-

тивность нейтрофилов при острой кровопотере в эксперименте.

Материалы и методы. Исследования проведены на 24 белых половозрелых беспородных мышах весом 12 – 19 г. Мыши были разделены на 4 группы: 1-я – контрольная группа, интактная; 2-я группа – группа с острой кровопотерей; 3-я группа – проводили острую кровопотерю и через 1 час вводили Кавергал внутривенно (в/в) в дозе 40 мг/кг; 4-я группа – вводили Кавергал затем через 1 час проводили острую кровопотерю. Всех животных забивали через 1 час после последней инъекции. Подсчитывали количество лейкоцитов и нейтрофилов. Из гепаринизированной периферической крови мышей выделяли нейтрофилы в градиенте плотности фиколла-верографина ($d = 1,093$). Выделенные нейтрофилы отмывали и с помощью моноклональных антител (пр-ва МедБиоСпектр, РФ) определяли поверхностные рецепторы к $CD16^+$, $CD45^+$, $CD95^+$ антигенам. Фагоцитарную активность нейтрофилов изучали общепринятым методом с частицами латекса.

Препарат Кавергал (проантоцианидины коры дуба обыкновенного) разработан в Институте химии растительных веществ, обладает иммунотропными и антиоксидантными свойствами.

Статистическую обработку проводили методом вариационной статистики на ПК с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0.

Результаты и обсуждение. Острая кровопотеря во 2-й группе вызвала снижение лейкоцитов до $4,7 \pm 0,4$ кл/мл (в контроле $8,4 \pm 1,9$ кл/мл). Острая кровопотеря и последующее введение Кавергала характеризовались повышением числа лейкоцитов до $7,1 \pm 0,2$ кл/мл. В 4-й группе мышей количество лейкоцитов в среднем составило $5,9 \pm 0,4$ кл/мл. Относительное количество нейтрофилов во всех опытных группах оставалось в сопоставимых количествах – $52,7 \pm 1,9\%$, $53,0 \pm 2,0\%$, $53,1 \pm 1,7\%$ соответственно во 2-й, 3-й и 4-й группах, в контроле $66,3 \pm 2,6\%$ ($p < 0,01$). В абсолютных величинах: в контроле – $5,6 \pm 0,2$ кл/мл; во 2-й группе – $2,5 \pm 0,16$ кл/мл; в 3-ей – $3,8 \pm 0,14$ кл/мл; в 4-й – $3,13 \pm 0,1$ кл/мл. Острая кровопотеря вызвала достоверное снижение абсолютного количества нейтрофилов во всех 3-х опытных группах мышей относительно фонового контроля.

Сравнительная оценка полученных данных показала, что острая кровопотеря вызывает двукратное снижение количества нейтрофилов в периферической крови мышей ($p < 0,001$). Острая кровопотеря с последующим введением Кавергала вызвала достоверное повышение количества нейтрофилов ($p < 0,01$). Предварительное введение Кавергала с последующей кровопотерей также вызвало достоверный рост абсолютного числа

нейтрофилов, но значительно меньший, чем в 3-ей группе ($p < 0,05$).

Таким образом, острая кровопотеря вызывает изменения в кроветворной системе, а введение Кавергала позволило выявить прирост количества нейтрофилов.

Анализ экспрессии поверхностных рецепторов нейтрофилов показал, что в относительных величинах количество $CD16^+$ нейтрофилов во 2-й, 3-ей, 4-й опытных группах (2-я группа – $29,6 \pm 4,4\%$; 3-я группа – $29,8 \pm 1,7\%$; 4-я группа – $22,4 \pm 1,6\%$) выявлялось в одинаковых пределах, но значительно ниже фоновых контрольных данных ($45,5 \pm 3,5\%$ при $p < 0,01$ относительно показателей в опытных трех группах).

Анализ экспрессии $CD45^+$ поверхностных рецепторов на нейтрофилах при острой кровопотере выявил значимые изменения относительно фонового контроля – $39,3 \pm 3,0\%$ в первой группе, $24,0 \pm 4,6\%$ во второй группе ($p < 0,01$). В 3-й группе нами отмечено снижение количества $CD45^+$ нейтрофилов почти в 2 раза ($20,1 \pm 2,4\%$ при $p < 0,01$). В 4-й группе наблюдалось снижение экспрессии $CD45^+$ рецепторов в 2,1 раза относительно фоновых значений ($18,3 \pm 3,8\%$, $p < 0,01$). Отмечен широкий размах индивидуальных значений этого показателя во всех группах экспериментальных животных.

Экспрессия $CD95^+$ рецепторов на нейтрофилах в группе фонового контроля составила $24,5 \pm 1,0\%$. При острой кровопотере наблюдалось их снижение в 1,36 раза ($18,0 \pm 5,0\%$, $p > 0,05$). Введение Кавергала после острой кровопотери повысило их количество, но не до контроля ($22,1 \pm 2,7\%$, $p > 0,05$). Предварительное введение Кавергала с последующей кровопотерей (4-я группа) вызвало снижение экспрессии $CD95^+$ рецепторов в 1,64 раза ($14,9 \pm 2,2\%$, $p < 0,01$).

Таким образом, изменения мембранных рецепторов нейтрофилов зависят от времени введения препарата Кавергал – до или после острой кровопотери. Острая кровопотеря оказывает повреждающее действие на нейтрофилы, связанное с гипоксией, ведет к депрессированию рецепторной функции нейтрофилов. Введение препарата Кавергал позитивно влияет на экспрессию мембранных рецепторов. Следует отметить, что характер экспрессии маркеров цитотоксичности ($CD16^+$) после острой кровопотери во всех трех опытных группах не зависел от введения Кавергала. Введение Кавергала после острой кровопотери оказывало стимулирующее влияние на экспрессию $CD95^+$ рецепторов, что объясняется его иммуномодулирующим действием.

Профилактическое введение Кавергала, предшествующее острой кровопотере, вызвало снижение экспрессии $CD45^+$ и $CD95^+$ поверхностных рецепторов нейтрофилов. Возможно это яв-

ляется свидетельством повышения их жизнеспособности посредством снижения экспрессии CD95⁺ - рецепторов на нейтрофилах и чувствительности к проапоптотическим сигналам.

Фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) в 1-й группе (фоновый контроль) составила $46,0 \pm 1,0\%$. При острой кровопотере ФАН снизилась до $21,0 \pm 1,8\%$ (2-я группа). Введение Кавергала после острой кровопотери вызвало некоторое повышение ФАН – $27,5 \pm 1,4\%$. Введение Кавергала с последующей острой кровопотерей повышало ФАН до показателей нормы – $47,9 \pm 2,7\%$.

Таким образом, острая кровопотеря вызывает нарушение функционирования нейтрофилов – снижение ФАН в 2 раза. Препарат Кавергал восстанавливал фагоцитарную функцию, зависящую от времени введения. Так предварительное введение препарата с последующей кровопотерей сохраняет фагоцитарную активность в исходных значениях, а введение Кавергала после острой кровопотери вызывает достоверный рост ФАН ($p < 0,05$), не достигающий исходного уровня.

Анализируя полученные результаты по оценке влияния отечественного препарата Кавергал на функциональную активность НГ на фоне повреждений, вызванных острой кровопотерей, можно заключить, что данный препарат проявил позитивный эффект. Кавергал обладает стимулирующим и протективным влиянием на рецепторные функции и фагоцитарную активность нейтрофилов при нейтропении, вызванной острой кровопотерей. Полученные нами данные позволяют считать Кавергал активным иммуномодулятором в отношении повреждений функциональной активности нейтрофилов и могут служить перспективной основой для дальнейших исследований.

Литература:

1. Беляева А.С., Ванько Л.В., Матвеева Н.К., Кречетова Л.В. Нейтрофильные гранулоциты как регуляторы иммунитета. //Иммунология. – 2016; Т. 37, №2, - с. 129 -133.
2. Матосова Е.В., Андрюков Б.Г. Антимикробные механизмы нейтрофилов как перспективные мишени для фармакологической модуляции неспецифической защиты организма. //Журн. микробиологии. 2018. - №3, - с. 96-105.
3. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд

на «старых игроков» на иммунологическом поле. //Иммунология. – 2015, 4, 257- 265.

4. Пинегин Б.В., Маянский А.Н. Нейтрофилы: структура и функция. //Иммунология. 2007; 28; 6:374 -382.
5. Сыров В.Н., Шахмурова Г.А., Хушбакова З.А. Сравнительная оценка влияния экдистена и кавергала на процесс адаптации к прерывистому действию высотной гипоксии. // Узбекский биологический журнал. 2009, №3, С. 11 – 14.
6. Тутельян А.В. Разработка системы оценки иммуностропных препаратов природного и синтетического происхождения на основе анализа иммунной и антиоксидантной защиты. //Аллергология и иммунология. 2004, т.5, №2, с. 289 – 299.
7. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. //Иммунология. Норма и патология. М.: Медицина. – 2010.
8. Bardoel B.W., Kenny E.F., Sollberger G. et al. The balancing act of neutrophils cell host and microbe. //Cell Host Microbe. 2014, 15(5); p. 526-536.
9. Mantovani A., Cassatella M., Costantini C. et al. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. //Nat. Rev. Immunology. 2011. – 11(8); - 519-531.
10. Nordenfelt P., Tapper H.J. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. //J. Leukos Biol. 2011. – 90(2). – 271-284.

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА КАВЕРГАЛ НА ФЕНОТИП И ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М.В. ЗАЛЯЛИЕВА¹, Н.Н.МИРАХМЕДОВА¹,
З.И. АХМЕДЖАНОВА¹, З.А. ХУШБАКТОВА²

1 - Республиканский научный центр
иммунологии МЗ РУз,

2 - Институт химии растительных веществ
АН РУз (Ташкент)

Проведено исследование влияния отечественного препарата Кавергал на функциональную активность нейтрофилов при нейтропении, вызванной острой кровопотерей. Установлен позитивный и протективный эффект Кавергала на поверхностные рецепторы (CD16, CD45, CD95) и фагоцитарную активность нейтрофилов.

Ключевые слова: поверхностные рецепторы, нейтрофилы, фагоцитарная активность, острая кровопотеря, эксперимент.