

УДК 612.118-092.9

Е.Н. Ермолаева, Л.В. Кривохижина, Е.Ф. Сурина-Марышева

ВЛИЯНИЕ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ СУБМАКСИМАЛЬНОЙ МОЩНОСТИ*Челябинская государственная медицинская академия (Челябинск)*

В эксперименте на животных было выявлено, что применение церулоплазмина при острой физической нагрузке субмаксимальной мощности приводит к увеличению нейтрофильного пула лейкоцитов с изменением их функциональной активности. Увеличивается способность к образованию лейкоцитарных агрегатов на фоне снижения хемотаксиса. Фагоцитарная функция изменяется неоднозначно — активность фагоцитоза растет, а интенсивность снижается.

Ключевые слова: острая физическая нагрузка, лейкоцитарные агрегаты, хемотаксис, фагоцитоз

EFFECT OF CERULOPLASMIN THE QUANTITATIVE COMPOSITION AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF LEUKOCYTES IN ACUTE PHYSICAL LOAD SUBMAXIMAL POWER

E.N. Ermolayeva, L.V. Krivokhizhina, E.F. Surina-Marysheva

Chelyabinsk State Medical Academy, Chelyabinsk

In experiments on animals have shown that the use of ceruloplasmin in acute submaximal exercise capacity leads to an increase in neutrophilic leukocytes pool with a change in their functional activity. Increased ability to form aggregates of leukocyte, decrease in chemotaxis. Phagocytic function changes ambiguously — activity of phagocytosis increases, and the intensity decreases.

Key words: acute physical activity, leukocyte aggregates, chemotaxis, phagocytosis

Адаптация к физическим нагрузкам обеспечивается функциональными сдвигами и структурными перестройками, которые имеют целесообразность для жизнедеятельности организма. Характер, направление и величина адаптивной перестройки систем организма зависят от интенсивности мышечной деятельности. Изменения затрагивают и лейкоцитарное звено периферической крови. Система профессиональных фагоцитов контролирует «первую линию обороны» организма против неблагоприятных воздействий, что обеспечивается за счет их способности к локомоции, фагоцитозу, килингу и перевариванию поглощенных частиц, синтезу и секреции регуляторных цитокинов, запускающих общие ответные реакции организма на альтерацию [4, 6]. Интенсивные физические нагрузки, превышающие адаптационные возможности организма, нередко приводят к нарушениям иммунного гомеостаза в организме с последующим развитием утомления и снижением физической работоспособности. Механизмы развития их до конца не изучены, что лимитирует разработку новых методов диагностики и коррекции этого явления.

Цель работы исследовать влияние церулоплазмина на количественный состав и функциональную активность лейкоцитов при острой физической нагрузке субмаксимальной мощности

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на 36 половозрелых белых беспородных крысах массой 180–200 г. Все исследования выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными при-

казом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977. Исследуемые животные были разделены на 3 группы. Первую из них (контрольную) составляли интактные крысы ($n = 8$). Во вторую группу (ОФН) вошли животные ($n = 14$), подвергавшиеся острой физической нагрузке субмаксимальной мощности. Крысам 3-й группы (ОФН + ЦП; $n = 14$), за 24 часа перед физической нагрузкой внутрибрюшинно вводили церулоплазмин (ЦП) в дозе 20 мг/кг массы тела, что составляло 50 % от его физиологического уровня в сыворотке крови. Крысам контрольной группы аналогично вводили физиологический раствор. Модель острой физической нагрузки воспроизводилась по методу А.Ф. Краснова, Г.И. Самодановой и др. [1]. Животные плавали в течение 4 минут с грузом массой 20 % от веса тела. Температура воды — 32 °С. Забор крови производился сразу после физической нагрузки внутрисердечно согласно правилам для гематологических исследований. Общее количество лейкоцитов в периферической крови определяли традиционным меланжерным методом; лейкограмму подсчитывали в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму [7]. Выделение лейкоцитов из цельной крови осуществляли по методу А. Воут [9], на градиенте плотности смеси фикола-урографин (1,095 г/см³). Концентрацию клеток во взвеси довели до $1,00 \times 10^6$ /мл. Жизнеспособность лейкоцитов оценивали в тесте с 0,10% раствором красителя трипанового синего [11]. Для оценки процессов спонтанного клеточно-клеточного взаимодействия в крови использовали метод L.A. Kirschenbaum et al. [12]. Производили смешивание равных объемов выделенных клеточных суспензий. После инкубации в течение 1 часа

в условиях термостата (37 °С), используя традиционный меланжерный метод, подсчитывали общее количество лейкоцитарных агрегатов, дифференцируя их по размерам на малые (до трех клеток включительно) и большие (четыре и более клетки). В качестве красителя использовали 1,00% раствор нейтрального красного. Для изучения миграционной активности лейкоцитов использовали метод R.D. Nelson et al. (1975) в модификации Л.Я. Эберта и соавт. [1], основанный на оценке хемотаксиса лейкоцитов под агарозным гелем. В качестве хемотрактанта использовали суспензию полистирольного монодисперсного латекса (d 1,40 мкм) в стандартной концентрации 10⁸ частиц/л. Фагоцитарную активность лейкоцитов оценивали по методу И.С. Фрейдлин [8], основанному на способности клеток захватывать частицы полистирольного монодисперсного латекса (d 1,40 мкм). Учитывали активность и интенсивность фагоцитоза.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Острая физическая нагрузка субмаксимальной мощности сопровождается развитием миогенного лейкоцитоза (контроль – 7,18 ± 0,11 × 10⁹/л; ОФН – 11,24 ± 0,68 × 10⁹/л; p < 0,01). Миогенный лейкоцитоз обусловлен, главным образом, действием стресс-реализующих гормонов. Катехоламины, глюкокортикоиды действуют на стенку костно-мозговых синусоидов, стимулируя выход лейкоцитов из костного мозга в циркулирующую кровь, а также усиливают демаргинацию гранулоцитов и переход их из пристеночного в циркулирующий пул [10]. Применение церулоплазмينا на фоне острой физической нагрузке субмаксимальной мощности у животных опытной группы привело к достоверному еще большему увеличению общего количества лейкоцитов (контроль – 7,18 ± 0,11 × 10⁹/л; ОФН + ЦП – 12,29 ± 1,71 × 10⁹/л; p < 0,01).

Анализируя лейкограммы, полученные от животных, которым вводили церулоплазмин на фоне острой физической нагрузки, определили еще большой рост содержания нейтрофилов за счет палочкоядерных (контроль – 0,32 ± 0,04 × 10⁹/л; ОФН + ЦП – 1,09 ± 0,12 × 10⁹/л; p < 0,01) и сегментоядерных форм (контроль – 0,95 ± 0,08 × 10⁹/л;

ОФН + ЦП – 2,23 ± 0,42 × 10⁹/л; p < 0,01) в абсолютных величинах, а также абсолютный лимфоцитоз (контроль – 5,76 ± 0,31 × 10⁹/л; ОФН + ЦП – 8,63 ± 0,63 × 10⁹/л; p < 0,01). Количественная перестройка лейкоцитов крови может быть обусловлена рядом причин. В первую очередь, с влиянием церулоплазмينا на процессы выхода зрелых клеток из костного мозга и в периферическую кровь и изменением адгезивной способности лейкоцитов и эндотелиальных клеток. В работах сотрудников кафедры патологической физиологии ЧелГМА [2, 3] показаны эритропоэтический, тромбопоэтический и лейкопоэтический эффекты церулоплазмينا в условиях нормального и стимулированного кроветворения. В нашем исследовании, применение церулоплазмينا при острой физической нагрузке субмаксимальной мощности привело к аналогичным результатам. Произошло значимое увеличение количества нейтрофильных лейкоцитов, что свидетельствует о перераспределительном характере лейкоцитоза.

Следующим этапом исследование явилось изучение влияния церулоплазмينا на функциональную способность лейкоцитов при действии острой физической нагрузки. Введение церулоплазмينا на фоне физической нагрузки привело к достоверному увеличению количества лейкоцитарных агрегатов (контроль – 1,05 ± 0,11 × 10⁹/л; ОФН + ЦП – 1,59 ± 0,23 × 10⁹/л; p < 0,05) преимущественно за счет больших форм. Увеличение количества малых форм по сравнению с контролем составило 36,7 %, а больших – 51,4 %. В основе лейкоцитарной агрегации лежат селективные адгезивные контакты по типу «роллинга». Формирование непрочных лейкоцитарных агрегатов обусловлено, по-видимому, увеличением количества активированных лейкоцитов.

Определяя локомоторную функцию лейкоцитов, у животных опытной группы с предварительным введением церулоплазмينا обнаружено достоверное снижение индекса хемотаксиса. Результаты представлены в таблице 1.

Ингибирующее влияние церулоплазмينا на локомоцию лейкоцитов на фоне физической нагрузки может быть обусловлено изменением про-

Таблица 1
Изменение функциональной активности лейкоцитов при введении церулоплазмينا на фоне острой физической нагрузки (M ± m; y)

Показатель		Контроль (n = 8)	ОФН (n = 14)	ОФН + ЦП (n = 14)	p ₁ p ₂ p ₃
Индекс хемотаксиса, у.е.		1,08 ± 0,04 0,05	1,05 ± 0,07 0,10	0,83 ± 0,06 0,08	> 0,05 < 0,05 < 0,05
Фагоцитоз	Активность фагоцитоза, %	22,58 ± 1,36 1,08	32,23 ± 1,59 3,36	34,78 ± 2,01 4,3	< 0,01 < 0,01 > 0,05
	Интенсивность фагоцитоза, у.е./кл	2,98 ± 0,21 0,44	3,11 ± 0,23 0,56	2,56 ± 0,37 0,31	> 0,05 > 0,05 > 0,05

Примечание: p₁ – достоверность между контрольной группой и ОФН; p₂ – достоверность между контрольной группой и ОФН + ЦП; p₃ – достоверность между ОФН и ОФН + ЦП.

дукции хемокинов под влиянием церулоплазмينا. На фоне увеличения емкости нейтрального пула и агрегационной способности происходит снижение двигательной активности клеток. Церулоплазмин является реактантом острой фазы, который повышается на 2–3-е сутки после острого воздействия. Так как церулоплазмин имеет специфические рецепторы не только на гепатоцитах, но и на поверхности моноцитов и лимфоцитов [5, 13], то он может влиять на секреторные процессы в лейкоцитах. Также возможно, что церулоплазмин сам или опосредовано через другие биологически активные вещества (IL-1, IL-8, TNF β , ФАТ) вмешивается в транслокацию адгезивных молекул на поверхности клеток: L – селектина на v_2 – интегринов на лейкоцитах; P- и E- селектинов на эндотелиальных клетках, ускоряя тем самым процесс локомоции. Возможно также, что активация гранулоцитов, происходящая под влиянием церулоплазмينا, сопровождается ростом внутриклеточного содержания ионов кальция, что увеличивает количество актино-миозиновых мостиков в сократительном аппарате клетки и ускоряет передвижение.

Применение церулоплазмينا у животных на фоне острой физической нагрузки привело к достоверному увеличению активности фагоцитоза, тогда как его интенсивность оказалась пониженной. Необходимо отметить, что у животных обеих экспериментальных групп показатели фагоцитоза были достоверно выше контрольных показателей. В литературе имеются сведения о том, что церулоплазмин, связываясь с нейтрофилами и моноцитами, усиливает поглотительную фазу фагоцитоза, не оказывая влияния на опсонизацию перевариваемых частиц [13]. Известно, что интенсивность фагоцитоза отражает адгезирующую способность фагоцитирующих клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение церулоплазмينا при острой физической нагрузке субмаксимальной мощности приводит к увеличению нейтрофильного пула лейкоцитов с изменением их функциональной активности. Увеличивается способность к образованию лейкоцитарных агрегатов на фоне снижения хемотаксиса. Фагоцитарная функция изменяется неоднозначно — активность фагоцитоза растет, а интенсивность снижается. Выявленные изменения способствуют улучшению мощности защитных систем при действии стрессогенных факторов, каким является острая физическая нагрузка субмаксимальной мощности.

Сведения об авторах

Ермолаева Елена Николаевна – доцент кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО ЧелГМА, кандидат медицинских наук (454000, г. Челябинск, ул. Воровского, 66; тел. сот.: 8-9517810486; e-mail: ermen33@mail.ru)

Кривохижина Людмила Владимировна – заведующая кафедрой патологической физиологии ГБОУ ВПО ЧелГМА, доктор медицинских наук, профессор

Сурина-Марышева Елена Федоровна – старший лаборант кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО ЧелГМА, кандидат медицинских наук

ЛИТЕРАТУРА

1. Краснов А.Ф., Самоданова Г.И., Усик С.В., Яковлев Н.Н. Уровень молочной кислоты в крови как показатель реакции на физические нагрузки // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. – 1978. – Т. 64, № 4. – С. 538–542.
2. Кантюков С.А., Сергеев В.И., Кривохижина Л.В., Осиков М.В. Влияние церулоплазмينا на количественный состав и функциональную активность лейкоцитов у интактных животных // Эфферентная терапия. – 2003. – № 2. – С. 56–59.
3. Кривохижина Л.В., Осиков М.В., Ермолаева Е.Н., Солодовникова О.А. и др. Церулоплазмин – регулятор клеточного состава периферической крови // Дизрегуляторная патология органов и систем: тез. докл. III Рос. конгр. по патофизиологии. – М., 2004. – С. 70.
4. Маянский А.Н., Галиуллин А.Н. Реактивность нейтрофила. – Казань: изд-во Казан. ун-та, 1984. – 158 с.
5. Пучкова Л.В., Сасина Л.К., Алейникова Т.Д., Гайцхоки В.С. Взаимодействие церулоплазмينا с рецептором плазматической мембраны CV-1 и его регуляция по типу обратной связи // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. – Т. 119, № 4. – С. 417–420.
6. Теплова С.Н., Алексеев Д.А. Секреторный иммунитет. – Челябинск, 2000. – 200 с.
7. Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. – София, 1968. – 1064 с.
8. Фрейдлин И.С. Методы изучения фагоцитирующих клеток при оценке иммунного статуса человека. – Л., 1986. – 272 с.
9. Хейфец Л.Б., Абалакин В.А. Разделение форменных элементов крови человека в градиенте плотности верографин-фиколл // Лабораторное дело. – 1973. – № 10. – С. 579–581.
10. Bainton D.F. Morphology of neutrophils, eosinophils and basophils // Williams Hematology. 5th ed. – 1995. – P. 753–765.
11. Hayhoe F.G.J., Quaglino D. Haematological cytochemistry. – London: Churchill Livingstone, 1994. – 673 p.
12. Kirschenbaum L.A., Adler D., Astiz M.A. Mechanisms of platelet-neutrophil interactions and effects on cell filtration in septic shock // Shock. – 2002. – Vol.17, N 6. – P. 508–512.
13. Seniuk O.F., Skorobogat'ko O.V., Tarasenko P.D. Study of physiological functions of human ceruloplasmin. The effect of ceruloplasmin on immunocytes in a normal state and in pathology // Biochimia. – 1994. – Vol. 59, N 10. – P. 1503–1510.