

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-8-21-23

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯТОРА ЭНДОГЕННОГО ИНТЕРФЕРОНА НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

А. П. Годовалов¹, Daniel Eliáš², И. А. Боев¹, М. С. Степанов¹

Изучено влияния циклоферона на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови здоровых доноров. Показано, что циклоферон стимулирует поглотельную активность лейкоцитов в среднем на 40 % ($p \leq 0,05$), снижая численность не фагоцитирующих клеток. Кроме этого увеличивается количество клеток, захвативших большое число объектов в среднем в 2 раза ($p \leq 0,05$). Преимущественное влияние препарат оказывает на моноциты, что, возможно связано с действием интерферона- γ .

Ключевые слова: циклоферон; фагоцитарная активность; лейкоциты; моноциты; иммуноотропные препараты; *in vitro*; здоровые доноры.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунитет человека пластичен, способен меняться при изменениях как внешней, так и внутренней среды. Установлены различия иммунного статуса в зависимости от пола, возраста, антропометрических данных, а также у людей, пребывающих в разных климатических зонах, и относящихся к разным этносам [1]. Кроме того, иммунный статус человека меняется в связи с наличием патологии. Поэтому не все пациенты будут иметь сходную реакцию на то или иное лекарственное средство (ЛС). Мало внимания уделяется тестированию иммуноотропных ЛС *in vitro*, когда можно оценить влияние конкретного препарата, например, на пролиферативную активность и/или синтетическую способность клеток. В настоящее время низкомолекулярные индукторы эндогенного интерферона (ИФ) успешно применяют с целью профилактики и лечения острых респираторных вирусных инфекций, а также ряда других инфекций у взрослых и детей [2 – 6, 8]. Одним из таких ЛС является циклоферон, для которого установлена низкая токсичность, отсутствие аллергенного, мутагенного и эмбриотоксического действия. Изучено влияние этого ЛС на продукцию ИФ нейтрофилами и лимфоцитами, а также показано изменение состава субпопуляций лимфоцитов [5, 6]. Описана стимуляция циклофероном микробицидности лейкоцитов и их антибиопленочной активности [9]. Однако представлено мало сведений об индивидуальных особенностях стимуляции циклофероном отдельных параметров фаго-

цитарной активности лейкоцитов периферической крови.

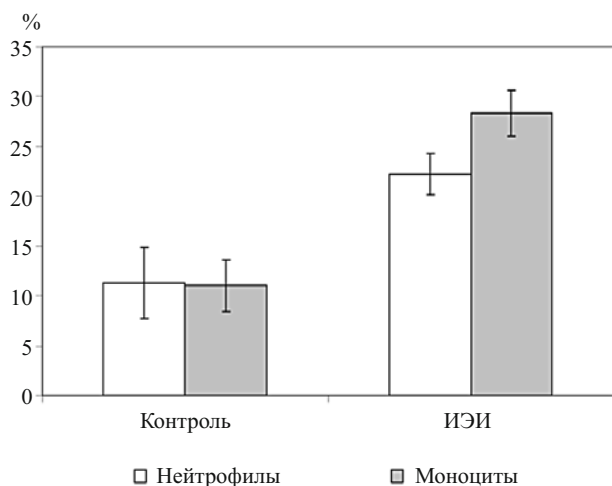
Цель исследования — изучить влияние циклоферона на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови здоровых доноров.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использовали пробы периферической крови 29 практически здоровых доноров ($30,7 \pm 1,3$ лет). Критерием исключения являлся женский пол, поскольку фагоцитарная активность лейкоцитов человека находится под влиянием женских половых гормонов, уровень которых циклически меняется [10]. Все пробы периферической крови делили на две порции по 1 мл. В порцию 1 вносили индуктор эндогенного ИФ — циклоферон (ООО “НТФФ “Полисан”) в конечной концентрации 0,005 мг/мл, что соответствует максимальной концентрации препарата в крови [7]. В порцию 2 крови вносили соответствующий объем физиологического раствора. Пробы инкубировали 60 мин при 37°С, после чего оценивали фагоцитарную активность лейкоцитов. Для оценки фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови использовали метод [11], сущность которого в том, что 0,025 мл отмытых формализированных эритроцитов барана (ФЭБ; 100×10^6 в 1 мл в среде 199 с 10 мМ НЕРЕС и 2 мМ L-глутамин) смешивали с 0,025 мл гепаринизированной периферической крови (50 МЕ) в микропробирках с низкой адгезией (Delta lab, Испания). Образцы инкубировали 20 мин при 37°С. Оценка числа нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов, фагоцитирующих ФЭБ, проведена на микропрепаратах, окрашенных по методу Романовского — Гимза. В каждом препарате учитывали не менее 300

¹ ФГБОУ ВО “Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера” Минздрава России, Россия, 614990, Пермь, ул. Петропавловская, 26.

² Charles University, Czech Republic, Hradec Kralove



Влияние циклоферона (0,005 мг/мл) на относительное число активно фагоцитирующих лейкоцитов *in vitro*.

фагоцитирующих клеток. Рассчитывали относительное число фагоцитирующих клеток каждого типа и среднее число ФЭБ приходящееся на 1 фагоцитирующую клетку.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 7.0. Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро-Уилка. В случае распределения, приближенного к нормальному, использовали t-критерий Стьюдента, в остальных случаях — критерий Манна — Уитни для оценки значимости различий. За пороговый уровень значимости принимали величину $p < 0,05$. Результаты представлены в виде среднего и его ошибки ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что инкубация проб крови с циклофероном приводит к снижению числа не фагоцитирующих лейкоцитов с $63,8 \pm 4,4$ до $49,5 \pm 2,9$ % ($p = 0,01$) (процент от числа лейкоцитов, участвующих в фагоцитозе — моноциты, нейтрофилы и эозинофилы). Соответственно, общее число фагоцитирующих клеток после инкубации увеличивается до $50,5 \pm 2,9$ %. Отмечено увеличение в 2 раза фагоцитирующих лейкоцитов (до $22,4 \pm 1,2$ %; $p = 0,01$ к пробам без циклоферона). Кроме этого, под влиянием циклоферона увеличивается число поглощенных лейкоцитами объектов.

После инкубации с циклофероном увеличивается число объектов, поглощенных фагоцитирующими нейтрофилами (с $1,4 \pm 0,1$ до $1,9 \pm 0,1$ на 1 фагоцитирующую клетку; $p = 0,01$).

Выявлено значимое увеличение числа активно фагоцитирующих мононуклеарных лейкоцитов после инкубации проб с циклофероном (рисунок). Среднее число поглощенных объектов на 1 фагоцитирующий моноцит после инкубации крови с циклофероном — $2,4 \pm 0,1$ ($1,4 \pm 0,1$ в контрольных пробах; $p = 0,01$),

что существенно выше, чем аналогичный показатель для нейтрофильных лейкоцитов ($p = 0,01$).

Известно, что в механизме действия циклоферона выделяют такие важные моменты как увеличение экспрессии Fc-рецепторов к иммуноглобулину G на фагоцитирующих клетках и повышение функциональной активности Th-лимфоцитов [5, 6]. Подобные изменения приводят к усилению фагоцитарной активности клеток врожденного иммунитета. Кроме этого, циклоферон стимулирует синтез клетками человека всех типов ИФ [5, 6]. Показано, что ИФ- γ оказывает на мононуклеарные клетки стимулирующее влияние, которое проявляется усилением поглотительной и микробицидной активности. Можно предположить, что лейкоциты под влиянием циклоферона начинают продукцию ключевых цитокинов, в частности ИФ- γ , который оказывает аутокринное действие на те же клетки и их активность повышается.

Таким образом, показано, что индуктор эндогенного ИФ циклоферон обладает свойством стимулировать фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови, в особенности — моноцитов.

Полученные данные предполагают, что включение циклоферона в комплексную терапию инфекционно-воспалительных заболеваний, в том числе, смешанной этиологии, повышает ее эффективность. В свою очередь, подход к оценке влияния циклоферона на поглотительную активность лейкоцитов может быть использован для изучения других лекарственных препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Циклоферон *in vitro* (в концентрации 0,005 мг/мл) стимулирует поглотительную активность лейкоцитов в среднем на 40 % ($p \leq 0,05$) и снижает численность нефагоцитирующих клеток.
2. Стимулирующая активность циклоферона реализуется за счет увеличения клеток, захвативших большое число объектов, в среднем, в 2 раза ($p \leq 0,05$).
3. Преимущественное влияние циклоферон оказывает на моноциты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б. А. Бахметьев, *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*, № 5, 45 – 47 (2016).
2. И. П. Василенко, М. Г. Романцов, А. И. Крюков и др., *Антибиот. и химиотер.*, **58**(7 – 8), 17 – 22 (2013).
3. И. С. Гельберг, С. Б. Вольф, С. Н. Демидики др., *Вестн. Санкт-Петербургской мед. академии им. И. И. Мечникова*, № 1, 176 – 183 (2009).
4. С. Ю. Ермак, С. А. Ляликов, М. Г. Зубрицкий, О. Н. Бородавко, *Антибиот. и химиотер.*, **59**(7 – 8), 25 – 29 (2014).
5. Д. В. Исаков, В. А. Исаков, *Клин. мед.*, **93**(9), 46 – 51 (2015).
6. М. Г. Романцов, *Инфекционные болезни*, 1, 14 – 15 (2015).
7. Д. С. Суханов, М. Г. Романцов, А. Н. Смагина и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **75**(1), 23 – 26 (2015).
8. Н. С. Татаурщикова, *Антибиот. и химиотер.*, **63**(7 – 8), 51 – 54 (2018).

9. Е. В. Тюляндина, А. П. Годовалов, *Рос. аллерголог. ж.*, **1**(1), 91 (2016).
10. Ю. И. Шилов, С. Ю. Шилов, А. Е. Жукова и др., *Рос. иммунол. ж.*, **10**(2), 183 (2016).
11. J. IShilov., E. G. Orlova, *Immunol. Lett.*, **86**, 229 – 233 (2003); doi: 10.1016 / s0165-2478(03)00027-0.

Поступила 14.02.21

EFFECT OF ENDOGENIC INTERFERON STIMULATOR ON PHAGOCYtic ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES

A. P. Godovalov¹, Daniel Eliáš², I. A. Boev¹, and M. S. Stepanov¹

¹ E. A. Vagner Perm State Medical University, ul. Petropavlovskaya 26, Perm, 614990 Russia

² Charles University, Hradec Kralove, Czech Republic

Effects of cycloferon on the phagocytic activity of leukocytes isolated from peripheral blood of healthy donors were studied *in vitro*. It was found that cycloferon stimulated the absorption activity of leukocytes on the average by 40% ($p \leq 0.05$), reducing the number of non-phagocytic cells. In addition, the number of cells that captured a large number of objects was increased on the average 2 times ($p \leq 0.05$). The cycloferon preparation predominantly affected monocytes, probably due to the action of interferon-gamma.

Keywords: cycloferon; phagocytic activity; leukocytes; monocytes; immunotropic drugs; in vitro; healthy donors.