УДК 616-003.725:612.116.2

РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ ИЗ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ

[1,2]Есаулова И.Н., [1]Цыбиков Н.Н., [2,3]Тарнуев В.А., [1,3]Гармаева О.Ж.

[1]ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Чита;

[2]ГБОУ ВПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздравсоцразвития России, Иркутск;

[3]АУ РБ Республиканский клинический госпиталь для ветеранов войн, Улан-Удэ, e-mail: esaulova_i@mail.ru

Цитомедины – это биологически активные соединения, продуцируемые органами и тканями, способные влиять на течение физиологических и биохимических процессов в организме для поддержания гомеостаза. Экспериментально выявлено, что пептиды (цитомедины), выделенные из тканей печени и сердца животных, влияют на адгезивные свойства клеток крови – увеличивают количество лейкоцитарно-эритроцитарных (ЛЭА), тромбоцитарно-эритроцитарных (ТЭА) и лимфоцитарно-тромбоцитарных (ЛТА) агрегатов. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии является ярким примером тесной взаимосвязи иммунитета и гемостаза, являющихся составными частями единой интегральной клеточно-гуморальной системы защиты организма.

Ключевые слова: гемостаз, кровопотеря, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия, пептиды, резистентность организма, цитомедины

REGULATORY PEPTIDES FROM THE INTERNAL ORGANS OF ANIMALS AFTER ACUTE BLOODLETTING

[1,2]Esaulova I.N., [1]Tsybikov N.N., [2,3]Tarnuev V.A., [1,3]Garmayeva O.Z.

[1]Chita State Medical Academy, Chita;

[2]Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk;

[3]Republican clinical hospital for veterans of wars, Ulan-Ude, e-mail: esaulova_i@mail.ru

Cytomedines are biologically active compounds, producing by organs and tissues, they are able to influence on the course of physiological and biochemical processes in an organism to suport homeostasis. It was revealed experimentally that peptides (cytomedines), isolated from tissues of liver and heart of animals affect the adhesive properties of blood cells – increase number of leukocyte-erythrocyte (LEA), platelet-erythrocyte (PEA) and lymphocyte-platelet aggregates (LPA). The phenomenon of lymphocyte-platelet adhesion is a shining example of the close relationship of immunity and haemostasis, which are integral components of a single cellular-humoral defense system.

Keywords: haemostasis, peptides, bloodletting, adhesion, resistance of the organism

Кровопотеря представляет собой комплекс компенсаторных и патологических реакций, возникающих в ответ на кровотечение [4]. К адаптивным механизмам компенсации кровопотери относят активацию свертывающей системы крови и процессы тромбообразования, реакции со стороны сердечно-сосудистой системы, восстановление белкового состава крови, устранение дефицита форменных элементов [2, 5].

Известно, что кровопотеря сопровождается активацией системы иммунитета, что проявляется в появлении активированных лимфоцитов, увеличение уровня антител, активацией реакции неспецифического иммунитета [5, 7]. Основное место в регуляции системы иммунитета отводится медиаторам в том числе, щелочным полипептидам – цитомединам, которые являются пептидами межклеточной регуляции и обеспечивают гомеостаз организма. Последние образуются в клетках различных органов в результате катепсинового протеолиза, проникают в жидкие среды организма и способны специфическим образом через рецепторы воздействовать на лимфоциты.

Многочисленными исследованиями установлено, что самые различные форменные элементы крови способны взаимодействовать друг с другом, образуя агрегаты. В частности, все без исключения виды лейкоцитов способны вступать во взаимодействие с тромбоцитами и кровяные пластинки, активируясь, могут присоединять к себе эритроциты [5, 6]. Одним из перспективных направлений исследования адаптационных реакций организма в ответ на острую кровопотерю является изучение свойств эндогенных пептидов (цитомединов), продуцируемые органами, тканями и клетками, способные вмешиваться в реализацию самых различных функций организма [1, 2].

Цель работы: изучить биологические свойства пептидов, выделенных из печени

и сердца животных, перенесших острую кровопотерю на адгезивные свойства клеток крови.

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на 20 животных (бараны). Все животные были разделены на 2 группы: опытные (10 баранов), которым пунктировали яремные вены и извлекали кровь в объеме равной 30% ОЦК за 5 дней до забоя и контрольные без предварительного кровопускания (10 баранов). Забой проводился в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение 4 к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977). Для получения цитомединов были взяты внутренние органы баранов – ткани печени и сердца. Выделение цитомединов проводилось методом уксусно-кислой экстракции с последующим осаждением комплекса полипептидов ацетоном (В.Г. Морозов и В.Х Хавинсон, 1999).

Цитомедины, полученные из печени и сердца баранов, которым за пять дней до забоя вскрывались яремные вены и выводилась кровь в объеме равной 30% ОЦК, были названы опытными. Контрольные цитомедины были получены из печени и сердца животных без предварительного кровопускания.

Нами проводилось исследование биологической активности цитомединов на 15 образцах крови доноров в возрасте от 18 до 25 лет (средний возраст 19,3 ± 1,8 года), не имеющих соматических, психических заболеваний.

Исследуемые пептиды, в конечной концентрации 10 мкг/мл, инкубировали с цитратной кровью доноров 60 минут при 37°С, затем центрифугировали со скоростью 3000 об/мин в течение 10 минут. Количество агрегатов форменных элементов крови оценивали по методу Д.И. Бельченко (1993).

Полученные данные были обработаны статистически общепринятыми методами с применением пакета прикладной программы «BIOSTAT» и программы статистического анализа Microsoft Excel, версия XP. Исследуемые параметры приведены в виде средних величин со стандартным отклонением M ± SD, где M – среднее значение, SD – среднее квадратичное отклонение. Статистическую значимость различий оценивали по критерию Манна-Уитни. Изменения считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что при повреждении тканей возникает тесное взаимодействие между отдельными лейкоцитами, тромбоцитами и эндотелием сосудов [8, 10]. Высвобождающиеся из активированных и поврежденных эндотелиальных клеток биологически активные вещества способны стимулировать адгезивную и агрегационную функцию тромбоцитов. Не остаются безучастными лейкоциты, которые способны адгезировать и образовывать лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов[3, 8, 9].

Лейкоциты также могут образовывать розетки друг с другом и с эритроцитами [5]. В физиологических условиях в кровотоке в небольших количествах происходит формирование разнообразных агрегатов клеток крови лимфоцитарно-тромбоцитарных (ЛТА), эритроцитарно-тромбоцитраных (ЭТА) и лейкоцитарно-эритроцитарных (ЛЭА). Физиологический смысл в формировании розеток состоит в том, что с одной стороны, микроагрегаты форменных элементов передают определенный гемостатический потенциал организму, а с другой стороны, вероятно, в агрегатах происходит взаимоактивация клеток и усиление их физиологических функций. Совершено иная картина развивается при массивном образовании розеток в патологии. Количество появляющихся лейкоцитарно-эритроцитарных агрегатов при стенокардии, по сравнению с нормой, увеличивается в 12 раз, а при остром инфаркте миокарда в 26 раз. В десятки раз может возрастать содержание агрегатов при неотложных состояниях [5]. Безусловно, при этом происходит блок микроциркуляции, так как крупные агрегаты не способны проходить через капилляры и нарушают микроциркуляцию. Особенно патофизиологичны лейкоцитарные агрегаты, так как клетки активируются с выделением агрессивных лизосомальных ферментов. Поскольку предпочтительным местом образования этих агрегатов является венозное русло, то основными «органами-мишенями» являются легкие, печень, сердце. Поэтому, понятен наш интерес к изучению влияния пептидов из печени и сердца на формирование ЛТА, ЭТА и ЛЭА.

Нами установлено (табл. 1), что пептиды, выделенные из тканей печени интактных и опытных животных, увеличивают ЛТА ($p_1 < 0,01$). Следует подчеркнуть, что пептиды опытных животных в большей степени увеличивают количество ЛТА, ЭТА и ЛЭА ($p_1 < 0,05$).

Аналогичные результаты получены при исследовании пептидов сердца экспериментальных животных (табл. 2).

Оказалось, что пептиды, выделенные из сердца интактных животных (см. табл. 2), увеличивают количество ЛТА ($p_1 < 0,01$), ЭТА ($p_1 < 0,05$) и ЛЭА ($p_1 < 0,01$) и этот эффект значительно усиливается при добавлении пептидов, выделенных из сердца животных, перенесших острую кровопотерю.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу способности пептидов, особенно животных перенесших острую кровопотерю, усиливать синтез и экспрессию адгезивных молекул на

мембранах форменных элементов крови, что проявляется в увеличении количества розеток. В целом, такую реакцию следует признать адаптивной, повышающей общую резистентность организма, так как в агрегатах идет взаимоактивация клеток, вследствие чего повышается их функциональная активность.

Таблица 1

Влияние пептидов из печени животных на ЛТА, ЭТА и ЛЭА (M ± SD)

Изучаемый показатель (число агрегатов на 100 кл)	Кровь доноров		
	Физиологический раствор (контроль) $n = 15$	Контрольные пептиды (опыт I) $n = 15$	Опытные пептиды (опыт II) $n = 15$
Лимфоцитарно-тромбоцитарные агрегаты	10,57 ± 1,9	15,0 ± 1,41 $p_1 < 0{,}01$*	16,29 ± 1,11 $p_1 < 0{,}01$* $p_2 < 0{,}05$
Эритроцитарно-тромбоцитарные агрегаты	1,71 ± 0,76	2,29 ± 0,49 $p_1 < 0{,}05$	4,39 ± 0,38 $p_1 < 0{,}05$ $p_2 < 0{,}05$
Лейкоцитарно-эритроцитарные агрегаты	1,57 ± 0,53	3,86 ± 1,07 $p_1 < 0{,}05$	4,86 ± 0,69 $p_1 < 0{,}05$ $p_2 < 0{,}05$

Примечания: p_1 – уровень значимости различий показателей между контролем и опытом I, между контролем и опытом II;

p_2 – уровень значимости различий показателей между опытом I и опытом II;

* – значимые отличия.

Таблица 2

Влияние пептидов из сердца животных на ЛТА, ЭТА и ЛЭА (M ± SD)

Изучаемый показатель (число агрегатов на 100 кл)	Кровь доноров		
	Физиологический раствор (контроль) $n = 15$	Контрольные пептиды (опыт I) $n = 15$	Опытные пептиды (опыт II) n = 15
Лимфоцитарно-тромбоцитарные агрегаты	10,57 ± 1,9	14,29 ± 1,8 $p_1 < 0{,}01$*	19,14 ± 2,34 $p_1 < 0{,}01$* $p_2 < 0{,}05$*
Эритроцитарно-тромбоцитарные агрегаты	1,71 ± 0,76	2,19 ± 0,49 $p_1 < 0{,}05$*	8,29 ± 0,39 $p_1 < 0{,}05$* $p_2 < 0{,}05$*
Лейкоцитарно-эритроцитарные агрегаты	1,57 ± 0,53	5,86 ± 1,07 $p_1 < 0{,}01$*	10,29 ± 1,49 $p_1 < 0{,}05$* $p_2 < 0{,}01$*

Примечание: условные обозначения те же, что и в табл. 1

Выводы

1. Цитомедины, полученные из печени и сердца интактных и, в большей степени, перенесших кровопотерю животных, увеличивают лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию.

2. Пептиды из печени животных, подвергшихся кровопусканию, повышают число лейкоцитарно-эритроцитарных агрегатов.

Список литературы

1. Ашмарин И.П., Королева С.В. Биоинформационный подход к исследованию функционального континуума // Успехи функциональной нейрохимии: сб. статей / ред. С.А. Дамбинова, А.В.Арутюнян. – СПб., 2003. – С. 83–93.

2. Боль. Молекулярная нейроиммуноэндокринология и клиническая патофизиология / К.И. Произаев, А.Н. Ильницкий, И.В. Князькин и др. – СПб.: Изд-во ДЕАН, 2006. – 304 с.

3. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 35–37.

3. Клигуненко Е.Н., Кравец О.В. Интенсивная терапия кровопотери. – М.: МЕДпресс-инфом, 2005. – 112 с.

4. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография. – Чита: Экспресс-изд-во, 2010. – 832 с.

5. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – № 2. – С. 3–16.

6. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Пептидные биорегуляторы. – М.: Вузовская книга, 2004. – 402 с.

7. Кузник Б.И., Витковский Ю.А., Солпов А.В. Адгезивные молекулы и лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия // Вестник гематологии. – 2006. – Т. II, № 2. – С. 42–55.

8. Солпов А.В. Механизмы лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии: дис…канд. мед. наук. – Чита, 2005. – 146 с.

9. Shenkman B., Brill G., Solpov A., Vitkovsky Yu., Kuznik B. CD4 + lymphocytes require platelet for adhesion to immobilized fibronectin in flow: Role of β1 (CD29)-, β2 (CD18) related integrins and non-integrin receptors // Cellular Immunology. – 2006. – Vol. 11. – P. 520–527.