

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ 2-ГИДРОКСИПРОПИЛ- β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Буко В.У.¹, Мороз В.Л.¹, Самойлик А.А.¹, Лукивская О.Я.¹, Нарута Е.Е.¹, Белоновская Е.Б.¹, Сидорович Е.А.², Кузьмицкая И.А.¹, Жук О.Н.¹, Кирко С.Н.¹

¹РУП “Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, БЛК, 50

²УО “Гродненский государственный медицинский университет”, г.Гродно, ул. Горького, 80

В связи с нарушением углеводного и других видов обмена веществ при среднетяжелых и тяжелых формах диабета угнетаются функции различных звеньев системы иммунитета, что повышает чувствительность слизистых оболочек мочеполовой, кишечной, дыхательной систем к различной бактериальной флоре [1]. Ослабление иммунитета, а также снижение общей неспецифической резистентности, служит причинами частого развития гнойной флоры кожи, подкожной клетчатки и костной ткани [1].

Известно, что при наличии инфекционных осложнений различных типов патологии, в том числе и диабета, наряду с антибактериальной терапией, применяют иммуномодуляторы [1]. Иммуномодуляторы (Т-активин, деринат и ронколейкин) продемонстрировали высокий терапевтический эффект при тяжелых гнойно-некротических процессах на фоне экспериментального диабета, повышая в несколько раз выживаемость животных [2]. Учитывая эффективность иммуномодулирующей терапии при сахарном диабете и его осложнениях, одной из актуальнейших проблем является поиск новых эффективных и безвредных иммунокорректоров, обладающих высокой фармакологической активностью.

Циклодекстрины являются полисахаридными наноструктурами, которые используются в фармакологии для транспортировки лекарственных веществ к органам-мишеням, что существенно повышает биодоступность препаратов и увеличивает их стабильность. В свою очередь, сами циклодекстрины обладают собственной фармакологической активностью, в частности, взаимодействуя с эндо- и экзотоксинами, прионами и другими соединениями. Поскольку многие полисахариды обладают выраженной иммуностимулирующей активностью, нами предпринята попытка исследовать и оценить иммуотропные свойства 2-гидроксипропил- β -циклодекстрина (ГПЦД) на модели стрептозотоцинового диабета у крыс.

Материалы и методы. В качестве исследуемого препарата использовали ГПЦД, который вводили животным внутривентрикулярно ежедневно, начиная с 11-го дня эксперимента. В эксперименте использовали крыс-самок линии Вистар массой 230-250 г. Стрептозотоциновый диабет моделировали путем однократного внутривентрикулярного введения стрептозотоцина в дозе 45 мг/кг, растворенного в 0,01 М цитратном буфере (рН=4,5). Опытные группы формировались спустя 10 дней с уровнем глюкозы в крови не ниже 20 ммоль/л. Затем животные были разделены на группы: 1 – здоровые крысы, служили контролем; 2 – крысы с диабетом; 3 – крысы с диабетом, которым ежедневно внутривентрикулярно вводили ГПЦД в дозе 264 мг/кг. Препарат вводили на протяжении 4 недель. После окончания опыта крыс декапитировали, кровь использовали для иммунологических исследований. Состояние фагоцитарного звена иммунитета животных опытных и контрольной групп оценивали по методу Новикова [1]. Для исследований использовали гепаринизированную венозную кровь животных. В качестве объекта фагоцитоза использовалась стандартная суспензия частиц латекса диаметром 1,5 мкм [3]. Количественный учет реакции проводили микроскопически, под иммерсионным увеличением. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по фагоцитарному индексу – проценту фагоцитов, содержащих поглощенные частицы латекса, и по фагоцитарному числу (ФЧ) – среднему числу частиц на один фагоцит. Одновременно исследовали метаболическую активность фагоцитов, используя гистохимический тест восстановления нитросинего тетразолия фагоцитами и превращения его в формазан [2]. Для постановки

метода использовали 0,2% раствор нитросинего тетразолия, инкубировали с цитратной кровью в равных соотношениях в течение 30 мин при 37°C. Иммунологические планшеты центрифугировали в течение 3 мин 1000 об/мин. Надосадочную жидкость убирали, осадок ресуспендировали, наносили на предметное стекло. Делали мазки с последующей фиксацией спиртом, окраской 2% раствором метиленового зеленого. Микроскопически, под иммерсионным увеличением подсчитывали процент формазан-положительных нейтрофилов, содержащих сине-фиолетовые гранулы формазана [3].

Общую гемолитическую активность системы комплемента сыворотки крови определяли по степени гемолиза сенсibilизированных эритроцитов барана и выражали как CH50 [4].

Для статистической обработки результатов исследования использовали тест t Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m$, где M - среднее значение, m - стандартная ошибка среднего.

Результаты исследования. В результате проведенных исследований и оценки иммунологических показателей выявлено, что в группе диабетических животных происходят выраженные изменения функционирования клеточных и гуморальных факторов иммунитета в сравнении с группой контрольных животных. Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов крови показало снижение активности фагоцитоза, в сравнении с группой контрольных животных, уровень метаболической активности резко увеличен. Снижается активность системы комплемента, наблюдаются изменения лейкоцитарной формулы: достоверно снижается относительное количество лимфоцитов с одновременным повышением уровня моноцитов в крови. Данные изменения можно расценивать, как предпосылку развития инфекционных осложнений при сахарном диабете.

Таблица 1 Иммунологические показатели крови крыс сахарным диабетом и контроль вивария.

	Контроль	Диабет	Диабет +ГПЦД
Лейкоциты, %	4.31± 0.43	6.10± 0.83	6.15 ± 0.52 ^a
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1.00 ± 0.01	1.22 ± 0.15	1.00 ± 0.01
Сегментоядерные нейтрофилы, %	13.63 ± 1.27	17.17 ± 1.78	10.67 ± 1.51 ^b
Эозинофилы, %	1.33 ± 0.21	3.10 ± 0.71	3.75 ± 0.80 ^a
Моноциты, %	8.38 ± 1.24	13.67 ± 1.39 ^a	9.22 ± 1.25 ^b
Лимфоциты, %	76.75 ± 1.83	65.67 ± 2.22 ^a	77.22 ± 2.44 ^b
Фагоцитарный индекс, %	92.88 ± 1.06	63.33 ± 2.62 ^a	79.25 ± 3.54 ^b
Фагоцитарное число	28.13 ± 1.90	16.93 ± 1.72 ^a	21.55 ± 1.40 ^a
Гемолитическая активность комплемента, CH50	88.74 ± 2.20	60.56 ± 3.99 ^a	71.47 ± 3.71 ^a
Тест восстановления нитросинего тетразолия, %	16.50±1,29	67.33 ± 9.04 ^a	24.25 ± 4.10 ^b

^a – по сравнению с контролем вивария (P<0.05)

^b – по сравнению с диабетом (P<0.05)

При введении ГПЦД диабетическим животным отмечается положительная динамика всех лабораторных показателей, в том числе, со стороны лейкоцитарной формулы.

Отмечено достоверное снижение уровня моноцитов крови, как один из благоприятных признаков течения иммунопатологического процесса, повышается относительное количество лимфоцитов. Усиливается способности клеток к фагоцитозу, при этом количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе (фагоцитарный индекс) достоверно повышается. Данное обстоятельство может быть связано с активацией рецепторного аппарата нейтрофилов, усилением адгезии, связывания и фагоцитоза антигенов. Усиление процесса фагоцитоза нейтрофилами является фактором, который позволит снизить развитие гнойно-воспалительных осложнений сахарного диабета и является одним из показателей эффективности проведения иммунотерапии при сахарном диабете.

При введении ГПЦД происходят достоверные изменения метаболической активности нейтрофилов. Количество формазан-положительных клеток снижается в 2.7 раза по сравнению с группой диабетических животных, не получавших лечение, что является одним из диагностических критериев благоприятного течения иммунопатологического процесса.

Заключение. Таким образом, нами установлено, что при стрептозотоциновом диабете введение ГПЦД в течение 4 недель оказывает иммуномодулирующее действие на фагоцитарное звено иммунной системы, нормализует лабораторные показатели крови и метаболическую активность нейтрофилов. Использование циклодекстринов для коррекции нарушений функционирования иммунной системы при сахарном диабете может найти применение в практическом здравоохранении.

Литература

1. Якобисяк М. Імунологія: Пер. з польської. — Вінниця: Нова Книга, 2004. — 672 с.
2. Новиков Д.К. Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. М.: Витебский мединститут, 1996. — 282 с.
3. Новиков Д.К. Медицинская иммунология: учеб. пособие. – Мн.: Выш. шк., 2005. – 301 с.
4. Новиков, Д.К. Клиническая иммунопатология: руководство. / Д.К. Новиков, П.Д. Новиков. – М. : Мед. лит., 2009. – 464 с.

IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF 2-HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN IN THE EXPERIMENTAL DIABETES MODEL

Buko V.U.¹, Moroz V.L.¹, Samoilik A.A.¹, Lukivskaya O.Ya.¹, Naruta E.E.¹,
Belonovskaya E.B.¹, Sidorovich E.A.², Zhuk O.N.¹, Kirko C.N.¹

¹Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of NAS, Grodno, Belarus

²GSMU, Grodno

The effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on immunopathological processes was evaluated in rat streptozotocin-induced diabetes. It is shown that the administration of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin has immunomodulatory effects on immune system, increasing phagocytic activity of neutrophils, improving their metabolic activity and normalizing blood leucocyte pattern.