

## ПРОТИВОСТРЕССОРНЫЕ И ИММУНОМОДЕЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА МАЛЫХ ДОЗ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГЕПАРИНА

<sup>1</sup>Кондашевская М.В.\*, <sup>1</sup>Макарова О.В., <sup>2</sup>Ковалева В.Л.

<sup>1</sup>ГУ НИИ морфологии человека РАМН, <sup>2</sup>Всероссийский научный центр биологически активных веществ, Москва, Россия

Эмоциональные стрессы, как сейчас бесспорно установлено, являются главной причиной иммунодефицитных состояний и повышения заболеваемости вирусными инфекциями. Для профилактики и лечения вирусных заболеваний следует включать препараты, оказывающие комплексное противовирусное, иммуномодулирующее и антистрессорное действия.

Мы предположили, что таким препаратом является высокомолекулярный гепарин (ВМГ), относящийся к классу гликозаминогликанов. ВМГ ингибируют инфицирование клеток многими разновидностями вирусов, воздействуя на АТФазу и транскрипцию РНК в бактериальных клетках. Кроме того, ВМГ играет важную роль в воспалительных реакциях и иммунном ответе [1].

Настоящее исследование направлено, на экспериментальную проверку гипотезы о возможности влияния высокомолекулярного гепарина на психоэмоциональные, поведенческие, когнитивные (познавательные) характеристики и функциональную активность нейтрофилов периферической крови крыс Вистар при курсовом введении в дозе ниже терапевтической.

Эксперименты проведены на самцах крыс аутбредной линии Вистар с массой тела 250-280 г (n=90), которых содержали в отдельных клетках группами по 10 особей. Опытная группа, до обучения в многоальтернативном лабиринте, получала ВМГ (фирма "Serva") в дозе 64 МЕ /кг (внутримышечно, 1 р/день, 5 сут). Контролем служили интактные животные (ИК) и крысы, которым вводили 0,3 мл 0,9 % физиологического раствора (ФР).

Для исследований функциональной активности нейтрофилов, приготавливали мазки периферической крови, которые окрашивали по В.Е. Пигаревскому с соавт. [2]. Содержание лизосомально-катионных белков определяли полуколичественным методом, вычисляя средний цитохимический коэффициент.

Информационный стресс создавали в модельных условиях обучения в многоальтернативном лабиринте, где животные должны были по методике свободного выбора (без вмешательства экспериментатора), найти правило многократного получения пищи в течение опыта: после взятия пищи (семечки подсолнуха) в одной или двух кормушках из четырех имеющихся в лабиринте, животные должны были самопроизвольно покинуть пищевую среду – выйти в свободное поле (не пищевую среду), для того, чтобы вновь зайдя в лабиринт, иметь возможность получить новую порцию корма в тех же кормушках. Регистрировали локомоторную активность, число заходов в лабиринт, количество подкреплений и ошибок, совершенных за опыт. Анализ психоэмоционального состояния крыс во время процесса обучения

производили на основании подсчета безусловных реакций, которые затем подразделяли на активные и пассивные классы. Подробное описание поведенческой модели описано в ряде публикаций (Никольская К.А. с соавт., 1998). Обучение проводили ежедневно в течение 20 дней.

Регистрация и первичный анализ данных осуществлялись с помощью компьютерной программы Labyrinth [3]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью статистического пакета STATGRAF для Windows 6.0. и ANOVA, достоверность значений оценивали по критерию Колмогорова-Смирнова и t-критерию Стьюдента.

В группе ИК (пассивный контроль), только 40 % особей были способны сформировать пищедобывательное поведение. Остальные 60 % (n = 22) «отказывались» обучаться. У этих животных доминировали реакции страха, проявляющиеся в виде частых дефекаций и мочеиспусканий и др.

Курсовое введение ФР (активный контроль) привело к формированию устойчивой оборонительной доминанты, выразившейся в резком (в 2,3 раза) снижении мотивационной и двигательной активности, возрастании доли пассивных форм безусловных реакций. 90 % крыс группы активного контроля «отказались» обучаться в проблемной ситуации.

ВМГ в дозе 64 МЕ/кг оказал весьма сильное активирующее воздействие на процесс обучения. 90% этих крыс, вместо 40% крыс в группе пассивного контроля и 10% в группе активного контроля смогли самостоятельно решить предложенную задачу. У этой группы крыс не только ассоциативные, но и тормозные процессы осуществлялись значимо лучше, чем у контрольных групп животных. Сильные активирующие эффекты ВМГ в дозе 64 МЕ/кг выявлялись у животных с исходно подавленными признаками познавательной деятельности, которые без фармакологического воздействия не способны к обучению. Указанные эффекты ВМГ в дозе 64 МЕ/кг устойчиво проявлялись на протяжении 20 сут после отмены препарата. Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что ВМГ в дозе 64 МЕ/кг обладает эффектами антидепрессанта, анксиолитика и психостимулятора.

Среди «некогнитивных» воздействий ВМГ было изучено его влияние на состояние иммунной системы. Нейтрофилы занимают одну из ключевых позиций в системе гуморально-клеточной кооперации крови и соединительной ткани, что делает их универсальной мишенью и индикатором многочисленных нарушений гомеостаза. Одними из наиболее важных веществ содержимого гранул нейтрофилов, способных активно участвовать в регуляции гомеостаза организма, являются катионные белки [2]. После пятикратного введения ВМГ в дозе 64 МЕ/кг, как без обучения, так и после обучения, по сравнению с обеими группами (без обучения и после обучения) ИК, наблюдалось снижение содержания катионных белков нейтрофилов периферической крови. По-видимому, ВМГ в дозе 64 МЕ/кг, вызвал инициацию процессов секреторной дегрануляции нейтрофилов, в результате чего уровень катионных белков в нейтрофилах снизился. Активация нейтрофилов обычно сопровождается экзоцитозом гранул и гранулолизисом. Секретируемые нейтрофилами продукты оказывают регуляторное влияние на другие клетки и медиаторные

системы. Из источников литературы известно, что гепарин может активировать процесс секреторной дегрануляции нейтрофилов [4]. Вероятно, это связано со способностью гепарина регулировать каталитический потенциал фосфолипаз и инозитол-1,4,5-трифосфата, являющихся ключевыми агентами инициальных реакций процесса секреторной дегрануляции [5].

В группе ИК, прошедших обучение в многоальтернативном лабиринте, содержание катионных белков в нейтрофилах достоверно не отличалось от группы не обучавшихся ИК. Содержание катионных белков в нейтрофилах периферической крови у обеих групп крыс, получавших ФР, оказалось достоверно выше, чем у обеих групп ИК. При сравнении групп крыс, получавших ФР, выяснилось, что после обучения уровень катионных белков был достоверно большим, чем в группе не обучавшихся крыс. Повышение содержания катионных белков в нейтрофилах может свидетельствовать об усилении их миграции из костного мозга и нарушении процессов секреторной дегрануляции.

Таким образом, в наших исследованиях мы продемонстрировали, что высокомолекулярный гепарин в дозе 64 МЕ/кг оказывает противострессорное, анксиолитическое, антидепрессивное, психостимулирующее действие и модулирует функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов.

#### Список литературы

1. Hatakeyama M., Imaizumi T., Tamo W., Yamashita K., Yoshida H., Fukuda I. Heparin inhibits IFN-gamma-induced fractalkine/CX3CL1 expression in human endothelial cells // *Inflammation*. – 2004. – Vol. 28. – No. 1. – P. 7-13.
2. Пигаревский В.Е., Мазинг Ю.А. К методике применения лизосомально-катионного теста в лабораторной диагностической практике // *Лаб. дело*. – 1981. – № 10. – С. 579-582.
3. Никольская К.А., Ещенко О.В., Шпинькова В.Н, Костенкова В.Н. Позитивные и негативные эффекты небольших искажений естественного магнитного поля на познавательную деятельность // *Вестник МГУ, Сер. 3*. – 1998. – № 3. – С. 75-79.
4. Freischlag J.A., Colburn M.D., Moore W.S. Alteration of neutrophil (PMN) function by heparin, dexamethasone, and enalapril // *J. Surg. Res.* – 1992. – Vol. 52. – No. 5. – P. 523-529.
5. Diccianni M.B., Mistry M.J., Hug K., Harmony J.A. Inhibition of phospholipase A2 by heparin // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1990. – Vol. 1046. – No. 3. – P. 242-248.

\* [mariluka@mail.ru](mailto:mariluka@mail.ru)