

Гусакова С.С., Амаэбери Н.В., Семенова Г.Н., Шадыро О.И.

2-Гексадеценаль регулирует функциональную активность нейтрофилов

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

2-Гексадеценаль (2ГД) – ненасыщенный альдегид, который образуется в организме из сфингозин-1-фосфата (С1Ф) под действием фермента С1Ф-лиазы. Этот альдегид обладает биологической активностью, индуцируя апоптоз в таких клетках, как НЕК293Т, HeLa, NIH3Т3 и клетки глиомы крысы С6. Изменение активности С1Ф-лиазы будет приводить к нарушению баланса С1Ф/2ГД, что может выражаться в изменении функций клеток, связанных с усилением либо подавлением пролиферации. Ранее нами и другими авторами был установлен неферментативный путь образования 2ГД в результате свободнорадикальной деструкции ряда сфинголипидов при действии γ - и УФ-излучения, а также в модельных и клеточных системах в условиях формирования оксидативного стресса, обусловленного гиперпродукцией $\text{НОС1}/\text{ОС1}$. Основным источником хлорноватистой кислоты в организме является

миелопероксидаза нейтрофилов, стимулированных к фагоцитозу. Поскольку сфинголипиды входят в состав плазматических мембран различных типов клеток, включая эритроциты и фибробласты сосудистой стенки, мы предположили, что нейтрофилы могут быть мишенью 2ГД при оксидативном стрессе. В связи с этим, изучение механизмов влияния 2ГД на функции нейтрофилов является актуальным.

Нейтрофилы выделяли из крови здоровых людей в градиенте плотности гистопак-1077. Выживаемость клеток после выделения и воздействия на них 2ГД определяли с использованием пропидиум йодида. Генерацию активных форм кислорода и хлора (АФКХ) нейтрофилами изучали методом люминолзависимой хемилюминесценции на хемилюминометре БХЛ-1(Минск, Беларусь). Клетки стимулировали к фагоцитозу адгезией к поверхности стекла и действием fMLP. Вклад НАДФН-оксидазы и миелопероксидазы в образование АФКХ выявляли с помощью специфических ингибиторов этих ферментов: дифенилениодония хлорид и гидразид 4-аминобензойной кислоты. Митохондриальный мембранный потенциал оценивали с использованием флуоресцентного зонда JC-1 ($\lambda_{\text{возб}}=490 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{фл}}=530, 590 \text{ nm}$) на спектрофлуориметре SM2203 (Solar, Беларусь). Апоптоз исследовали на проточном цитометре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, USA) с применением Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit Trevigen (Gaithersburg, MD, USA).

Установлено, что 2ГД в зависимости от концентрации способен изменять продукцию АФКХ в стимулированных к фагоцитозу нейтрофилах: $0,35 \mu\text{M}$ вызывают увеличение, а $3,5 \mu\text{M}$ – дозозависимое снижение генерации активных интермедиатов кислорода и хлора. Наблюдаемые эффекты не связаны с цитотоксическим действием этого альдегида. В повышающий эффект, обусловленный действием 2ГД, вносят основной вклад НАДФН-оксидаза и миелопероксидаза этих клеток. Действие 2ГД на клетки сопровождается значительным и зависимым от концентрации альдегида уменьшением митохондриального мембранного потенциала. Инкубирование нейтрофилов с $0,35 \mu\text{M}$ 2ГД в течение 4 ч не влияет на апоптотические процессы в этих клетках. В то же время, обработка нейтрофилов $35 \mu\text{M}$ 2ГД приводит к снижению количества живых клеток, а также клеток в стадии раннего апоптоза до $17,8 \pm 3,5 \%$ и $11,9 \pm 2,7 \%$ соответственно. В этом случае основная часть популяции нейтрофилов ($67,7 \pm 4,1 \%$) находится в стадии позднего апоптоза. С увеличением концентрации исследуемого альдегида до $100 \mu\text{M}$ практически все клетки ($97,7 \pm 4,8 \%$) окрашиваются и Annexin V, и пропидиум йодидом, что свидетельствует о переходе нейтрофилов в стадию позднего апоптоза.

Таким образом, установлено, что 2ГД в микромолярных концентрациях регулирует функции нейтрофилов, стимулированных к фагоцитозу. Это выражается в изменении редокс-активности клеток и индуцировании апоптоза. Поскольку накопление этого альдегида связано с развитием оксидативного стресса, можно предположить, что 2ГД является эндогенным регулятором воспалительных реакций в организме.