

УДК 615.015.44

Ж.Р. ХАСЕНБЕКОВА, А.Е. ГУЛЯЕВ, З.Т. ШУЛЬГАУ, А.Р. КУШУГУЛОВА,  
С.С. КОЖАХМЕТОВ, С.А. САДУАХАСОВА, Т.С. НУРГОЖИН, Ж.Ш. ЖУМАДИЛОВЦентр наук о жизни, ЧУ «National Laboratory Astana»,  
АОО «Назарбаев Университет» г. Астана, Казахстан**ОЦЕНКА СУММАРНОЙ СЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МАКРОФАГОВ  
ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С ФАРМАКОЦИТАМИ**

Хасенбекова Ж.Р.

*Макрофаги обладают способностью менять свой специфический фенотип в зависимости от среды, что объясняет их функциональную пластичность.*

**Цель работы.** Исследовать изменения фенотипа макрофагов при культивировании их с антибиотиком рифампицин в свободной форме и в форме депо в «тенях» эритроцитов (фармакоцитах).

**Материал и методы.** Человеческие моноциты, эритроциты и плазма для культуральной среды получены из периферической крови здоровых доноров. Проведено выделение моноцитов на градиенте плотности с центрифугированием и дальнейшей адгезией. Для активации по провоспалительному фенотипу в среду добавляли интерферон-гамма ( $\gamma$ INF) в концентрации 100 нг/мл, для стимуляции по противовоспалительному фенотипу добавляли интерлейкин 4 (IL4) в концентрации 10 нг/мл. По истечении срока инкубации собирали культуральную жидкость для определения концентрации цитокинов методом твердофазного иммуноферментного анализа. В качестве антибиотика, связанного с эритроцитарной оболочкой был взят рифампицин, относящийся к группе ансамицинов. Фармакоциты с рифампицином получали методом Hypotonic preswelling.

**Результаты и обсуждение.** Исследование показало, что фармакоциты влияют на уровень секреции провоспалительных (пг/мл): IL1 $\beta$  и TNF $\alpha$  и противовоспалительных IL1ra и CCL18/PARC (хемокин) цитокинов. Суммарная активность цитокинов изменяется в пользу преобладания M2 фенотипа макрофагов.

**Вывод.** Совместное культивирование моноцитов с фармакоцитами влияет на их поляризацию.

**Ключевые слова:** моноциты, макрофаги, фенотип, цитокины, фармакоциты.

**В**оспалительные реакции организма играют важную роль в развитии большого количества патологических состояний и серьезных социально значимых заболеваний. Понимание механизмов воспалительной реакции и возможности ее модулирования – одна из фундаментальных проблем современной биологии и медицины. Центральное место в индукции воспаления наряду с нейтрофилами принадлежит макрофагам – источнику многих цитокинов и других биологически активных молекул.

Известна функциональная пластичность фенотипа макрофагов. В зависимости от типа и количества действующего инфицирующего фактора и микросреды интактные макрофаги приобретают специфический функциональный фенотип провоспалительный или противовоспалительный (M1 и M2). Провоспалительный фенотип характеризуется усиленной продукцией провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), и фактор некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Противовоспалительный фенотип характеризуется сниженной продукцией провоспалительных цитокинов и усиленной продукцией противовоспалительных цитокинов, таких как, IL1ra и хемокин PARC/CC18 [1, 2]. При патологических состояниях и заболеваниях фенотипическая поляризация макрофагов, то есть соотно-

шение макрофагов фенотипов M1 и M2, может существенно изменяться, что, в свою очередь, приводит к преобладанию того или иного пути дифференцировки Т-клеток (Th1/Th2) [3]. Идентификация фенотипа макрофагов и способы коррекции фенотипа для репрограммирования макрофагов в настоящее время исследуются интенсивно.

Целью данной работы было исследование возможности изменения фенотипа макрофагов при культивировании их с антибиотиком рифампицин в свободной форме и форме депо в «тенях» эритроцитов (так называемые фармакоциты).

Интерес к новым лекарственным формам антибиотиков, в частности к формам депо в аутоклетках крови, связан с разработкой систем направленного транспорта лекарственных средств. Как известно, препарат, введенный в организм традиционными способами, распределяется в нем относительно равномерно, проникая не только в органы-мишени, но и другие, где действие препарата может носить негативный характер, в зависимости от введенной дозы. При этом лекарственное вещество достигает своих биологических мишеней в концентрации, значительно меньшей по сравнению с необходимой терапевтической, что вынуждает использовать дозы, которые на один-два порядка превышают теоретически необходимые. Реализа-

**Контакты:** Хасенбекова Жанагуль Рахимберлиевна, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии Центра наук о жизни, г. Астана. Тел. + 7 7172 70 93 15, e-mail: zhanagul.khasenbekova@nu.edu.kz

**Contacts:** Zhanagul Rahimberlievna Khasenbekova, Senior Researcher, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Center of Life Sciences, Astana c. Ph. + 7 7172 70 93 15, e-mail: zhanagul.khasenbekova@nu.edu.kz

ция целенаправленного концентрирования лекарственного препарата исключительно или хотя бы преимущественно в зоне, охваченной патологическим процессом, позволяет резко снизить нежелательные реакции организма на медикаментозное воздействие, сократить терапевтическую дозу лекарства и кратность его введения [4, 5].

Отдельным направлением является разработка систем доставки, в которых в качестве носителей используются естественные контейнеры – форменные элементы крови человека или животных, не покрытые соответствующими антителами к клеткам-мишеням. Методы, предполагающие использование аутоклеток крови для модификации их свойств с целью создания внутриклеточного депо препарата и осуществления направленного транспорта, объединяют под общим названием «экстракорпоральная фармакотерапия». Получаемые при этом клетки обозначаются термином «фармакоциты». Подобные системы доставки наиболее выгодны с точки зрения их биологической совместимости [6]. С позиции экстракорпоральной фармакотерапии наиболее перспективным представляется использование в направленном транспорте эритроцитов – самых многочисленных клеток крови с целым рядом желательных морфологических и физиологических характеристик. Достоинствами эритроцита как носителя лекарственных препаратов являются: высокая степень биологической совместимости, особенно при использовании аутологичных клеток; способность к биологическому разложению и, как следствие, отсутствие токсических продуктов деградации; длительность циркуляции в кровотоке, существенно превышающая аналогичные показатели для искусственных носителей; возможность загрузки широкого спектра фармакологических препаратов; относительно инертная внутриклеточная среда, защищающая поставляемый препарат от инактивации эндогенными факторами; простота получения из крови в количестве, необходимом для загрузки терапевтической дозы препарата [7, 8].

Настоящее сообщение содержит результаты исследования влияния фармакоцитов с рифампицином на поляризацию фенотипа макрофагов по уровню секреции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

#### Материал и методы

Из периферической крови здоровых доноров были получены человеческие моноциты, эритроциты и плазма для культуральной среды.

Взвесь мононуклеаров была выделена методом центрифугирования в градиенте плотности. Гепаринизированная кровь отстаивалась при комнатной температуре в течение 30 мин, затем была разведена средой 199 в 3 раза. Далее кровь центрифугируют с Histopaque плотностью 1,077 г/см<sup>3</sup> при комнатной температуре на центрифуге с горизонтальным ротором 45 минут при 400g без торможения. Выделяют интерфазное кольцо, которое разбавляли средой 199 и центрифугировали 3 раза при 200g 10 минут. Подсчет мононуклеаров крови был проведен в камере Горяева с определением жизнеспособности после окрашивания трепановым синим.

В концентрации  $2 \times 10^6$  клеток на лунку суспензия мононуклеаров была распределена в 24-луночном планшете (24 Well, With Lid Corning CellBind Surfac) с поверхностью для адгезии с целью дальнейшего выделения моноцитов.

В каждую лунку добавляли полную культуральную среду (RPMI 1640 с глутамином 84 мл, 100 мкл гентамицина, 50 мкл меркаптоэтанол в RPMI и инактивированная при 56°C аутологичная плазма 10 мл). Проводили инкубацию в течение 60 минут при 37°C в атмосфере с 5% углекислым газом. После инкубации помещали в качалку на 5 минут для равномерного покачивания со скоростью 60-80 об/мин. Супернатант убирают и промывают оставшийся монослой теплым раствором Хэнкса (37°C). После промывания добавляют культуральную среду и испытуемые средства по 100 мкл к прикрепившимся моноцитам [9].

С целью активации по провоспалительному фенотипу в среду добавляли интерферон-гамма ( $\gamma$ INF) в концентрации 100 нг/мл, для стимуляции по противовоспалительному типу добавляли интерлейкин 4 (IL4) в концентрации 10 нг/мл. Для исследования влияния на пластичность культивируемых макрофагов фармакоцитов, содержащих рифампицин, последние добавляли в соответствующей концентрации в культуру клеток. Инкубацию осуществляли в течение 3 суток при 37°C в насыщенной парами воды атмосфере с 5% углекислым газом. По истечении срока инкубации собирали культуральную жидкость для определения концентрации цитокинов методом твердофазного иммуоферментного анализа [10].

В качестве антибиотика, связанного с эритроцитарной оболочкой, был взят рифампицин, относящийся к группе ансамицинов. Он является антибиотиком широкого спектра с бактерицидным действием. Рифампицин представляет собой кристаллический порошок кирпично-красного цвета, без запаха.

Фармакоциты с рифампицином получали методом Hypotonic preswelling. Гепаринизированную кровь в объеме 10 мл центрифугировали при  $1000g \times 10$  минут, затем отмывали 3 раза фосфатным буфером. В 1 мл отмытых эритроцитов добавляли 4 мл гипотонического раствора натрия хлорида (0,65%) и центрифугировали при  $600g \times 5$  минут. После удаления супернатанта к 0,9 мл полученных эритроцитов добавляли 100 мкл раствора рифампицина, растворенного в дистиллированной воде до концентрации 10 000 мкг/мл. 1 мл полученной суспензии смешивали с 4 мл гипертонического раствора натрия хлорида (1,1%). После инкубации в течение 30 минут при 37°C центрифугировали при  $1000g \times 10$  минут и промывали фармакоциты фосфатным буфером. 0,2 мл фармакоцитов использовали для определения количества рифампицина, включенного в тени эритроцитов. После определения концентрации включенного в тени эритроцитов рифампицина был создан раствор с такой же концентрацией свободного рифампицина, используемого в качестве контроля. Стандартный и исследуемый растворы фотометрируют в сравнении с ацетонитрилом при следующих длинах волн: 475, 334, 255 и 237 – пики рифампицина [11, 12, 13]. Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы STATISTICA. Достоверность различий между исследуемыми группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента.

#### Результаты

Проведено выделение моноцитов из периферической крови человека на градиенте плотности с центрифугированием и дальнейшей адгезией. При подсчете выявлено жиз-

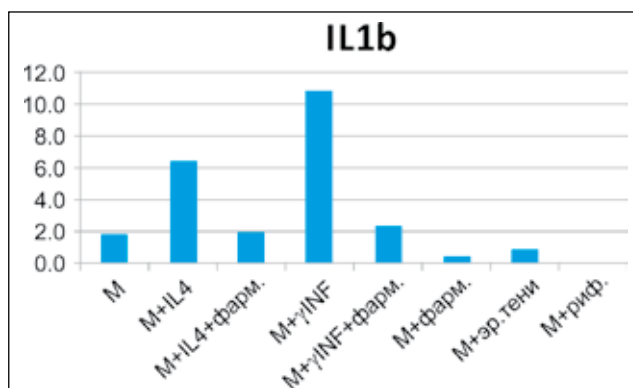


Рисунок 1 – Уровень цитокина IL1b на 3-е сутки культивирования моноцитов с фармакоцитами и рифампицином

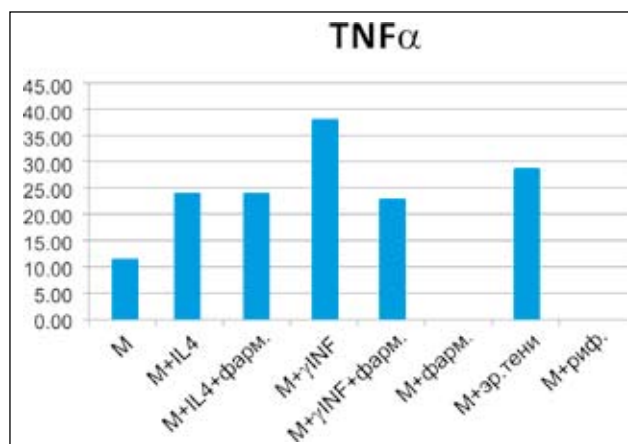


Рисунок 3 – Уровень цитокина IL1ra на 3-е сутки культивирования моноцитов с фармакоцитами и рифампицином

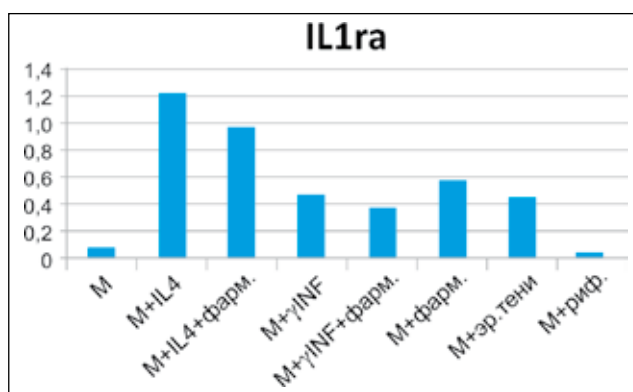


Рисунок 2 – Уровень цитокина TNFα на 3-е сутки культивирования моноцитов с фармакоцитами и рифампицином

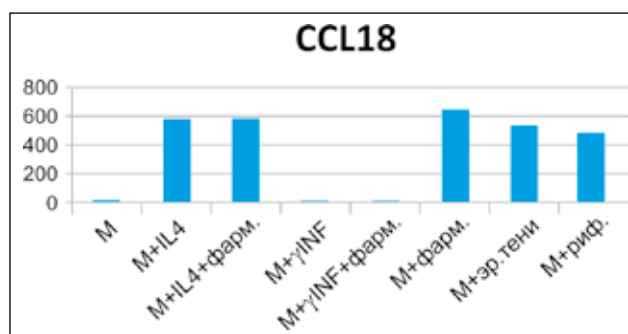


Рисунок 4 – Уровень хемокина CCL18 на 3-е сутки культивирования моноцитов с фармакоцитами и рифампицином

неспособных клеток 75-80%. Анализ секреции цитокинов в супернатанте после трех суток культивирования показал, что проведенная стимуляция моноцитов  $\gamma$  INF и IL4 привела к формированию у макрофагов M1 (провоспалительного) и M2 (противоспалительного) фенотипа (рис. 1-4).

При иммуноферментном анализе был определен уровень противоспалительных цитокинов (пг/мл) IL1 $\beta$  и TNF $\alpha$  и провоспалительных IL1ra и CCL18/PARC (хемокин). Результаты отражены в диаграммах (рис. 1-4). Продукция цитокина IL1 $\beta$ , как показано на рисунке 1, неоднозначна в различных популяциях моноцитов/макрофагов. После 3-х суток культивирования в интактной популяции клеток уровень секреции цитокина равен 1,75 пг/мл. При инкубации моноцитов с эритроцитарными тенями секреция цитокина снижается практически в 2 раза относительно интактных клеток, а в популяции клеток со свободным рифампицином мы наблюдаем полное подавление секреции провоспалительного цитокина. Культивирование моноцитов с фармакоцитами не привели на 3-й день к стимуляции ИЛ1 $\beta$ , цифры остаются на очень низких показателях – 0,38±0,09. В популяции макрофагов с заданным фенотипом M1 и M2 уровень секреции цитокина увеличен, соответственно в провоспалительной группе ИЛ1 $\beta$  выше (10,72±5,9), чем в противоспалительной популяции (6,28±1,8, p<0,01). До-

бавление к культуре клеток фармакоцитов независимо от сформированного фенотипа приводит к снижению данного цитокина до уровня секреции в интактной популяции клеток (1,77-2,23±0,5 пг/мл).

Продукция цитокина TNF $\alpha$  (24,24-22,87±10,2) во всех группах в присутствии фармакоцитов сравнима с уровнем продукции цитокина в группе с противоспалительной стимуляцией (24,24±10,2), т.е. независимо от предварительного фенотипа M1 или M2 секреция TNF $\alpha$  снижается до уровня активности противоспалительной популяции. Но в интактных клетках при культивировании совместно с фармакоцитами и рифампицином продукция цитокина подавлена до 0 пг/мл (рис. 2).

При анализе продукции противоспалительных цитокинов мы наблюдаем наибольший пик продукции IL1ra в макрофагах с противоспалительной стимуляцией 1,22±0,5, в присутствии фармакоцитов – 0,973±0,2. При стимуляции  $\gamma$ INF уровень секреции IL1ra снижен в 2,5 раза (p<0,001), практически на этом же уровне остается секреция при культивировании с фармакоцитом. Таким образом, при заданном фенотипе добавление к культуре клеток фармакоцитов не приводит к значимому изменению секреции цитокина ИЛ1ra, но культивирование интактных макрофагов с фармакоцитами способствует усилению секреции цитокина

в 7,6 раза ( $p < 0,01$ ). Однако это превышает секреторную активность клеток, инкубированных с эритроцитарными теньями только на 22%.

Хемокин CCL18/PARC является известным маркером M2 фенотипа макрофагов, соответственно усиление его продукции наблюдается в макрофагах, стимулированных IL4 ( $577,8 \pm 39,33$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). Необходимо заметить, что, как и в предыдущей диаграмме, добавление к культуре моноцитов с известным фенотипом макроцитов не приводит к изменению секреторной активности клеток, но в случае культивирования с интактными моноцитами макроциты способствуют увеличению продукции хемокина в 6 раз ( $646,49 \pm 35,76$ ,  $p < 0,001$ ). Усилению секреции способствует и отдельное добавление к культуре клеток эритроцитарных теней – в 5 раз, отдельно рифампицина – в 4 раза.

#### Обсуждение

Данные литературы позволяют считать, что фенотип макрофагов не только определяет характер врожденного иммунного ответа, но и, в значительной мере, предопределяет выбор между развитием Th1 или Th2 иммунными ответами, именно: M1 фенотип макрофагов и их провоспалительные цитокины стимулируют развитие Th0 клеток в Th1 клетки, а M2 фенотип макрофагов и их противовоспалительные цитокины в Th2. Таким образом, возможность репрограммирования макрофагов с целью управления вектором развития Th1/Th2 иммунного ответа позволяет влиять на воспалительный процесс в организме [3]. Необходимо также отметить, что объектом данного исследования являются макроциты, то есть эритроциты, содержащие во внутреннем пространстве антибиотик рифампицин, который применяется при туберкулезе, лепре, бруцеллезе и других инфекционно-воспалительных заболеваниях, вызванных чувствительными к нему микроорганизмами. Он имеет свои серьезные побочные эффекты, ограничивающие его прием, в частности токсическое воздействие на печень, почки. Поэтому способ обеспечения терапевтической концентрации лекарственного средства в очаге воспаления путем доставки препарата в контейнере в виде аутоэритроцита может быть вариантом снижения токсичности и повышения эффективности. В нашем эксперименте носителем рифампицина были модифицированные эритроциты, которые в организме захватываются и лизируются преимущественно макрофагами селезенки и печени, создавая в этих органах высокие локальные концентрации препарата [6]. Культивирование моноцитов с аутологичными эритроцитами, связанными с рифампицином, позволяет понять, влияют ли макроциты на пластичность макрофагов и соответственно на ход воспалительного процесса в очаге. Иммуноферментный анализ секретируемых цитокинов и изменения секреции под действием исследуемых субстанций свидетельствуют о вероятности существенного изменения фенотипа макрофагов.

Продукция провоспалительных цитокинов IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  в клетках, культивированных с макроцитами, подавляется независимо от первоначального фенотипа макрофагов. Уровень секреции этих цитокинов в популяции с фенотипом M1 и M2 поддерживается на одном уровне. При этом инкубация в течение 3 суток со свободным рифампицином полностью подавляет продукцию провоспалительных цитокинов, что связано с иммуносупрессорными свойствами антибиотика

и нашло подтверждение в литературе [14]. Концентрация противовоспалительных цитокинов (IL1 $\alpha$  и CCL18/PARC) увеличена у интактных клеток, а у макрофагов с заданным фенотипом макроциты поддерживают имеющийся уровень продукции цитокинов. Культивирование с рифампицином и отдельно с эритроцитарными теньями приводит к активации секреции хемокина CCL18/PARC, но с макроцитами их уровень более выражен. Рифампицин связывается с белками крови почти на 80-90%. Он растворяется в жирах, то есть обладает липотропным свойством и проходит через биологические мембраны. Учитывая эти данные, можно предполагать, что постепенное высвобождение рифампицина из эритроцитарной оболочки происходит методом простой диффузии. Эритроцитарная оболочка имеет сложную липидно-белковую структуру, в которой ключевая позиция принадлежит белкам, поэтому наблюдаемая активность провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  и противовоспалительных цитокинов IL1 $\alpha$  и CCL18/PARC при совместном культивировании закономерна.

#### Выводы

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что макроциты (рифампицин, включенный в эритроцитарные «тени»), влияют на поляризацию макрофагов с изменением суммарной активности цитокинов в пользу преобладания M2 фенотипа макрофагов, что положительно должно отражаться на течении воспалительного процесса. Учитывая особенности применения эритроцитов как транспортного средства для антибиотиков в организме, можно говорить о перспективности его применения при гнойно-воспалительных заболеваниях печени и желчевыводящих путей. При этом наряду с тем, что достигается высокая локальная концентрация антибиотика в очаге воспаления, можно предполагать изменение фенотипа макрофагов и увеличения естественного иммунного ответа. Полученные предварительные результаты служат основанием для проведения в дальнейшем более расширенных исследований в данном направлении.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Малышева Е.В. Репрограммирование клеточных ответов макрофагов: д-ра мед. наук: 14.00.16. – Москва, 2007. – 175 с.
- 2 Бережная Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. I. Клетки и цитокины – участники воспаления // Онкология. – 2009. – Т. 11, №1. – С. 6-17
- 3 Лямина С.В., Круглов С.В., Калиш С.В., Малышев И.Ю. Репрограммирование альвеолярных макрофагов – новая возможность управления иммунным ответом // Вестник ВолгГМУ. – 2011. – Выпуск 4 (40). – С. 42-46
- 4 Соснов А.В., Иванов Р.В., Балакин К.В. и др. Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц // Качественная клиническая практика. – 2008. – № 2. – С. 4-12
- 5 Генинг Т.П., Белозерова Л.А. Эритроцитарные носители в направленном транспорте лекарств в гепатологии. – Ульяновск: УлГУ, 2006. – 79 с.
- 6 Ивонин А.Г., Пименов Е.В., Оборин В.А., Девришов Д.А., Копылов С.Н. Направленный транспорт лекарственных препаратов: современное состояние вопроса и пер-

спективы // Известия Коми научного центра УРО РАН В. – 2012. – № 9. – С. 46-55

7 Shah S. Novel drug delivery carrier: resealed erythrocytes // International J. Pharm. – 2011. – Vol. 2, No 1. – P. 394-406

8 Lewis D.A., Alpar H.O. Therapeutic possibilities of drugs encapsulated in erythrocytes // Int. J. Pharm. – 1984. – Vol. 22. – P. 137-146

9 Fogelman AM, Elahi F, Sykes K, Van Lenten BJ, Territo MC, Berliner JA. Modification of the Recalde method for the isolation of human monocytes // J Lipid Res. – 1988. – Vol. 29 (9). – P. 1243-1247

10 Грачев А.Н., Карагодин В.П., Мясоедова В.А., Кириченко Т.В., Рудимов Е.Н., Орехова Е.А., Хренов М.О., Авхачева Н.В., Мубаракшина Э.К., Кжышковская Ю.Г., Орехов А.Н. Выделение моноцитов из крови человека для изучения влияния факторов внешней среды на иммунитет // Бюллетень Московского общества испытателей природы. – 2009. – №114(3). – С. 291-296

11 Rechsteiner MC. Uptake of Protein by Red Cells // Exp. Cell Res. – 1975. – Vol. 43. – P. 487-492

12 Tajerzadeh, H., Hamidi, M. Evaluation of the hypotonic preswelling method for encapsulation of enalaprilat in human intact erythrocytes // Drug Devel. Ind. Pharm. – 2000. – Vol. 26. – P. 1247-1257

13 Hamidi M., Zarrin A.H., Foroosh M., Zarei N., Mohammadi-Samani S. Preparation and in vitro evaluation of carrier erythrocytes for RES-targeted delivery of interferon-alpha 2b // International Journal of Pharmaceutics. – 2007. – Vol. 341. – P. 125-133

14 Серебрякова В. А. Иммуномодулирующие свойства основных и резервных препаратов стандартной химиотерапии туберкулёза лёгких: автореф. ... д-ра мед. наук: 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, 14.03.03 – патологическая физиология. – Томск, 2010. – 40 с.

**Т Ұ Ж Ы Р Ы М**

**Ж.Р. ХАСЕНБЕКОВА, А.Е. ГУЛЯЕВ, З.Т. ШУЛЬГАУ, А.Р. ҚОШЫҒҰЛОВА, С.С. ҚОЖАХМЕТОВ, С.А. СӘДУАҚАСОВА, Т.С. НҰРҒОЖИН, Ж.Ш. ЖҰМӘДИЛОВ**

*Әмір туралы ғылымдар орталығы, ЖМ «National Laboratory Astana»,*

*«Назарбаев Университеті» ААҚ, Астана қ., Қазақстан*

**ФАРМАКОЦИТТАРМЕН БІРГЕ ЕГУ КЕЗІНДЕГІ МАКРОФАГТАРДЫҢ ЖИЫНТЫҚТЫ СЕКРЕТОРЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІНІҢ БАҒАСЫ**

Макрофагтар қоршаған микроортасына байланысты жеке фенотиптерін өзгертуге қабілетті. Бұл олардың функционалды икемділігін білдіреді.

**Жұмыстың мақсаты.** Макрофагтардың бос түрдегі және «көлеңке» эритроциттер (фармакоциттер) формасындағы рифампицин антибиотигімен егу кезіндегі фенотиптерінің өзгеруін зерттеу.

**Материал және әдістері.** Адамның моноциттері, эритроциттері және өсірінді орта үшін плазма сау донорлардың перифериялық қанынан алынды. Тығыздық градиенті бойынша

моноциттерді бөліп алу, центрифугалау және одан кейінгі адгезия жүргізілді. Қабыну бойынша фенотипі активациясы үшін 100 нг концентрациясында интерферон гамма ( $\gamma$ INF) қосылды, ал қабыну бойынша фенотипін жандандыру үшін 10 нг/мл концентрациясында интерлейкин 4 (IL4) қосылды. Инкубациялық кезең өткеннен кейін, қатты фазадағы иммуно-ферменттік анализ жүргізу арқылы цитокиндер концентрациясын анықтау үшін өсірінді сұйықтық жиналған болатын. Эритроциттердің қабығымен байланысқан антибиотик ретінде ансамициндер тобына жататын рифампицин алынды. Рифампицині бар фармакоциттер Hypotonic preswelling әдісімен алынды.

**Нәтижелері және талқылауы.** Нәтижесінде фармакоциттер қабынушы секреция деңгейіне әсер ететіндігі анықталды: IL1 $\beta$  және TNF $\alpha$  және қабынушы IL1 $\alpha$  және CCL18/PARC (хемокин) цитокиндер. Цитокиндердің жалпы белсенділігі макрофагтардың M2 фенотипіне басымдылығын көрсетеді.

**Қорытынды.** Моноциттер мен фармакоциттердің бірге егілуі олардың поляризациялануына әсер етеді.

**Негізгі сөздер:** моноцит, макрофагтар, фенотип, цитокиндер, фармакоциттер.

**S U M M A R Y**

**Zh.R. KHASSENBEKOVA, A.E. GULYAYEV, Z.T. SHULGAU, A.R. KUSHUGULOVA, S.S. KOZHAKHMETOV, S.A. SADUAKHASOVA, T.S. NURGOZHIN, Zh.Sh. ZHUMADILOV**

*Center of Life Sciences, Autonomous Organization for Education 'Nazarbaev University', Astana c., Kazakhstan, PE «National Laboratory Astana», Astana c., Kazakhstan*

**ESTIMATE OF THE TOTAL SECRETORY ACTIVITY OF MACROPHAGES IN CULTURE WITH PHARMACOCYTES**

Macrophages have the ability to change their specific phenotype depending of type of microenvironment, which explains their functional plasticity.

**Objective** to investigate changes in the phenotype of macrophages by culturing them with the antibiotic rifampicin in free form and in the form of a depot in the "ghosts" of red blood cells (pharmakocytes).

**Material and methods.** Human monocytes, red blood cells and plasma to the culture medium obtained from the peripheral blood of healthy donors. Monocytes isolated from the density gradient centrifugation method and adhesion. Interferon gamma ( $\gamma$ INF) at a concentration of 100 ng/ml was added to the medium for the activation of proinflammatory phenotype, interleukin-4 (IL4) in a concentration of 10 ng/ml was added for the stimulation by an anti-inflammatory phenotype. The concentration of the cytokines was determined by ELISA in the culture fluid after incubation. Rifampicin is taken as an antibiotic related to the erythrocyte membrane, belonging to the group ansamycins. Pharmakocytes with rifampicin were obtained by Hypotonic preswelling.

**Results and discussions.** The investigations showed that pharmakocyte affect the level of secretion of proinflammatory (pg/ml): IL1 $\beta$  and TNF $\alpha$  and antiinflammatory IL1 $\alpha$  and CCL18 /PARC (chemokine) cytokines. The total gross cytokine activity changed in favor of the predominance of the M2 macrophage phenotype.

**Conclusion.** Co-culture of monocytes with pharmakocytes affect their polarization.

**Key words:** monocytes, macrophages, phenotype, cytokines, pharmakocytes.

*Для ссылки: Хасенбекова Ж.Р., Гуляев А.Е., Шутьгау З.Т., Кушугулова А.Р., Кожакметов С.С., Садуахасова С.А., Нургожин Т.С., Жумадилов Ж.Ш. Оценка суммарной секреторной активности макрофагов при культивировании с фармакоцитами // J. Medicine (Almaty). – 2015. – No 8 (158). – P. 35-39*

*Статья поступила в редакцию 03.08.2015 г.*

*Статья принята в печать 25.08.2015 г.*