

УДК 616-099:678.744.5:612.017.1]-092.9

О. А. Наконечна

СТАН НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ДІЇ ПРОСТИХ ПОЛІЕФІРІВ

Харківський національний медичний університет МОЗ України (м. Харків)

Тема виконувалась у Харківському національному медичному університеті в рамках наукової проблеми "Біохімія і патохімія обміну речовин, механізми регуляції й медична ензимологія" (ДР 0103U004546), та науково-дослідної роботи пріоритетного фінансування МОЗ України "Наукове обґрунтування біохімічної моделі структурно-метаболических зрушень в організмі внаслідок впливу шкідливих чинників, як прогностичної основи до-нозологічних станів" (номер держреєстрації 0199U001763).

Вступ. Значне погіршення здоров'я населення обумовлено впливом різноманітних шкідливих екологічних факторів. Техногенні, зокрема хімічні, забруднювачі навколишнього середовища посідають провідне місце в ряду чинників, що негативно впливають на стан здоров'я населення [2, 6].

Однією з найчутливіших систем організму, яка на ранніх етапах реагує на дію шкідливих чинників довкілля, є імунна система. Для запобігання проникнення в організм носіїв чужорідної генетичної інформації в філогенезі сформувалася система захисту, яка включає неспецифічні (природжені) та специфічні (набуті) фактори резистентності організму. Перші здійснюють захист від будь-якого патогену без прямої залежності від його властивостей, а другі – це власне імунні реакції, що реалізуються завдяки безпосередній діяльності імунокомпетентних клітин [3]. Багато ксенобіотиків виявляють здатність оказувати імунодепресивну дію, викликати алергічні та аутоімунні захворювання, порушувати формування набутого імунітету, здійснювати прямий токсичний вплив на клітини систем імунного гомеостазу та їх регуляторні механізми, індукувати розвиток вторинного імунодефіциту [1, 2, 6, 7, 9, 11]. Група простих поліефірів (ППЕ) на основі пропіленгліколів (ПГ), гліцеролу і пропіленгліколів (ГлПГ), пентолу і пропіленгліколів (ПнПГ) використовується у різних галузях народного господарства в якості цільових продуктів і основних компонентів для отримання ряду хімічних сполук, а також у практичній та експериментальній медицині як кріопротектори та пролонгатори лікарських препаратів [12]. Така широка

сфера використання цих речовин потребує поглибленого вивчення механізмів їхньої дії на організм людини та тварин. Відсутність в доступній науковій літературі даних щодо впливу ППЕ на стан імунної системи теплокровних тварин обумовлює актуальність проведення даних досліджень.

Метою дослідження було вивчення стану неспецифічної резистентності організму щурів за умов тривалого впливу простих поліефірів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ50 шляхом визначення фагоцитарної активності нейтрофілів, вмісту клітин-кілерів, стану мікрофлори та бактерицидності шкірних покривів.

Об'єкт і методи дослідження. У роботі використано хімічно чисті зразки ППЕ, які синтезовані та надані НВО „Полімерсинтез” (м. Владімір, Росія). Дослідження проводили на 90 статевозрілих 3-х місячних щурах-самцях популяції Wistar масою 180-220 г. Тваринам протягом 30 діб одноразово внутрішньошлунково натщесерце зондом вводили водні розчини: ППЕ на основі ПГ з молекулярною масою 192, 540, 1120, 2106 (ПГ-192, ПГ-540, ПГ-1120, ПГ-2106); ППЕ на основі Гл та ПГ з молекулярною масою 498, 1136 (ГлПГ-498, ГлПГ-1136); ППЕ на основі Пн та ПГ з молекулярною масою 700, 790 (ПнПГ-700, ПнПГ-790). Розрахунок необхідної для введення кількості речовин проводили, виходячи з даних про параметри їхньої токсичності. Для вивчення стану показників неспецифічної резистентності в організмі щурів використовували дози 1/10 та 1/100 ДЛ50, які відповідно складали для: ПГ-1120 – 0, 48 та 0, 048; ПГ-2106 – 0, 145 та 0, 0145; ПГ-192 – 0, 304 та 0, 0304; ПГ-540 – 0, 18 та 0, 018; ГлПГ-498 – 2, 1 та 0, 21; ГлПГ-1136 – 0, 15 та 0, 015; ПнПГ-700 – 0, 15; ПнПГ-790 – 1, 7 та 0, 17 г/кг маси тварин. Щурам контрольної групи вводили відповідні об'єми питної води. Фагоцитарну активність нейтрофілів визначали за відсотком фагоцитозу, фагоцитарним індексом, фагоцитарним числом (середня кількість частинок латексу, поглинених одним фагоцитом), відсотком та індексом перетравлення, абсолютними показниками поглинання і перетравлення у відношенні до золотистого стафілококу (штам 209). У кожному мазку переглядали 100 нейтрофілів та відмічали

кількість клітин, які підлягали фагоцитозу [4]. Для оцінки природної кілерної активності була використана методика кількісного визначення великих гранульованих лімфоцитів у мазках периферичної крові щурів [2, 4]. Стан мікрофлори визначали за допомогою середовища Коростельова (м'ясо-пептоний агар з манітом та індикатором бромтімолблау), а бактерицидність шкірних покривів – середовища Ендо через 2 години після нанесення культури кишкової палички. Підрахунок колоній проводили після інкубації мазків у

термостаті протягом доби при температурі 37 °C [10].

Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t - критерій Ст'юдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант [5].

Результати досліджень та їх обговорення. Результати досліджень щодо вивчення фагоцитарної активності нейтрофілів у щурів на 30-ту добу дії 1/10 та 1/100 ДЛ50 наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Фагоцитарна активність нейтрофілів у щурів за умов дії простих поліефірів (M±m, n=6)

Речовина	Доза, ДЛ50	Фагоцитарне число	Індекс поглинання	Індекс перетравлення	Поглинання стафіло-коків на активний нейтрофіл	Перетравлення стафілококів на активний нейтрофіл
Контроль		81, 56± 7, 34	5, 67±0, 49	0, 89±0, 07	8, 25±0, 07	1, 96±0, 18
прості поліефіри на основі пропіленгліколів						
ПГ-192	1/10	64,12±5,62*	3,84±0,48*	0,72±0,06*	7,12±0,06*	1,50±0,17*
	1/100	67,23± 6,31	4,02±0,45	0,76±0,08	7,49±0,07*	1,61±0,14*
ПГ-540	1/10	63,78±5,31*	4,31±0,46*	0,73±0,07*	7,13±0,08	1,55±0,16*
	1/100	67,52± 6,14*	4,78±0,37*	0,78±0,07	7,23±0,07*	1,62±0,15*
ПГ-1120	1/10	59,40±5,46*	4,28±0,44*	0,72±0,06*	7,30±0,08	1,53±0,17*
	1/100	64,12± 5,67*	4,62±0,43*	0,75±0,07	7,55±0,07*	1,61±0,15*
ПГ-2106	1/10	62,48±6,15*	4,16±0,43*	0,69±0,07	7,15±0,08*	1,58±0,16*
	1/100	68,26± 5,56	4,97±0,55	0,71±0,07*	7,41±0,07*	1,68±0,17*
прості поліефіри на основі гліцеролу та пропіленгліколів						
ГлПГ-498	1/10	68,50±5,24*	4,15±0,48*	0,73±0,06*	7,32±0,08	1,68±0,17
	1/100	71,48± 5,84	4,74±0,43	0,78±0,08	7,66±0,08	1,73±0,15
ГлПГ-1136	1/10	60,48±5,90*	4,10±0,44	0,65±0,07*	7,02±0,07*	1,54±0,15
	1/100	61,48± 5,90*	4,24±0,39*	0,68±0,06*	7,16±0,06*	1,63±0,15
прості поліефіри на основі пентолу та пропіленгліколів						
ПнПГ 700	1/10	76,08±8,42	4,70±0,58	0,84±0,09	8,25±0,09	1,90±0,20
	1/100	79,73± 6,45	4,91± 0,52	0,89±0,07	8,32±0,08	1,95±0,16
ПнПГ 790	1/10	72,49±8,52	4,74±0,61	0,80±0,09	7,81±0,09	1,83±0,19
	1/100	74,91± 6,32	4,89±0,52	0,82±0,08	7,97±0,09	1,85±0,17

Примітка: * - p<0,05 відносно контролю.

ППЕ на основі ПГ у дозі 1/10 ДЛ50 знижували фагоцитарне число в середньому на 23 %, індекс поглинання на 27 %, індекс перетравлення на 20%, поглинання та перетравлення стафілококів на 1 активний нейтрофіл відповідно на 13% та 21%, порівняно з контролем. Найбільш на фагоцитарну активність нейтрофілів впливали ПГ-540 та ПГ- 1120. Для ППЕ на основі Гл та ПГ у цієї дозі спостерігалася практично така динаміка. При цьому найбільш токсичну дію виявив ГлПГ-1136. ППГ на основі Пн та ПГ не оказували суттєвого впливу на фагоцитарну активність нейтрофілів.

ППЕ на основі пропіленгліколів у 1/100 ДЛ50 знижували фагоцитарне число в середньому на 18 %, індекс поглинання та перетравлення на 17 % та 19 %, поглинання та

перетравлення стафілококів на 10 % та 18 % відповідно, порівняно з контролем. Серед ППЕ на основі пропіленгліколів найбільшу активність виявили ПГ-540 та ПГ-1120. З ППЕ на основі гліцеролу та пропіленгліколів виражену токсичну дію чинив ГлПГ-1136: знижував фагоцитарне число на 25%, індекс поглинання та перетравлення стафілококів на 13% та 17% відповідно. ППЕ на основі пентолу та пропіленгліколів у 1/10 та 1/100 ДЛ50 практично не впливали на фагоцитарну активність нейтрофілів.

Таким чином, на 30-ту добу експерименту дія досліджуваних простих поліефірів (крім ППЕ на основі Пн та ПГ) у більшості випадків супроводжується зниженням фагоцитарної активності імунокомпетентних клітин. Пригнічення фагоцитозу практично

ніколи не буває тотальним [11]. Вірогідно, воно пов'язано з вибірковою блокадою відповідних рецепторів або зі зменшенням їхньої кількості. Також пригнічення фагоцитозу може бути наслідком виснаження основних метаболічних резервів бактерицидності – мілопероксидази.

Важливу роль в захисті організму від шкідливих факторів довкілля відіграють лімфоцити периферичної крові завдяки їхній природній цитотоксичності. Природні клітини-кілери (НК-клітини) – це великі гранульовані лімфоцити, які становлять 10-15% лімфоцитів периферичної крові. Морфологічно - це середні та великі лімфоцити з азурофільною зернистістю в цитоплазмі. Їх функція полягає в знешкодженні клітин, уражених вірусом, впливі на клітини, що мають інший набір антигенів. НК-клітини мають дуже високий літичний потенціал та здатні руйнувати клітини-мішені, здійснювати протипухлинний захист, лізувати та елімінувати бактеріальні та вірусні антигени, відігравати важливу роль у підтримці гомеостатичної рівноваги в організмі [2, 4].

За умов впливу ППЕ на основі ПГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ50 спостерігалось зниження вмісту НК-клітин в крові щурів порівняно з контрольною групою на 46 % та 39 % відповідно. Більш виражену дію при цьому чинили ПГ-192 та ПГ-1120. ППЕ на основі гліцеролу та пропіленгліколів - ГлПГ-1136 знижував вміст клітин-кілерів на 48% (1/10 ДЛ50) та 38% (1/100 ДЛ50). Такі речовини як ГлПГ-498, ПнПГ-700, Пн-790 не виявили впливу на вміст клітин-кілерів крові щурів (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст клітин-кілерів в крові щурів за умов дії простих поліефірів (M±m, n=10)

Речовина	Доза, ДЛ50	
	1/10 ДЛ50	1/100 ДЛ50
Контроль	202,8 ± 16,3	
прості поліефіри на основі пропіленгліколів		
ПГ-192	100,6±15,3*	118,5±19,5*
ПГ-540	110,4±14,8*	124,6±19,7*
ПГ-1120	108,4±17,2*	119,7±18,6*
ПГ-2106	119,5±16,4*	131,8±11,2*
прості поліефіри на основі гліцеролу та пропіленгліколів		
ГлПГ-498	194,5±10,8	196,5±12,7
ГлПГ-1136	105,8±9,6*	124,8±9,3*
прості поліефіри на основі пентолу та пропіленгліколів		
ПнПГ-700	182,4±12,6	189,7±15,7
ПнПГ-790	186,8±13,9	188,8±13,5

Примітка: вміст виражений у пг/мл;
* - p < 0, 05 відносно контролю.

Отримані результати переконливо свідчать про зниження кілерної цитотоксичності, пригнічення імунної активності організму щурів за тривалої дії ППЕ. Низька кілерна активність лімфоцитів може призвести до пригнічення резистентності організму.

Наступним етапом вивчення впливу досліджуваних речовин на стан неспецифічної резистентності організму щурів було дослідження мікрофлори та бактерицидності шкірних покривів. Відомо, що при первинному надходженні мікроорганізмів на слизові оболонки першими спрацьовують механічні бар'єри та фізіологічні реакції, при неспроможності яких підключаються фактори природженої резистентності [3]. Усі групи простих поліефірів на 30-ту добу дії у 1/10 та 1/100 ДЛ50 виявили здатність до збільшення мікрофлори та зниження бактерицидності, порівняно з контролем (табл. 3).

Таблиця 3

Стан мікрофлори та бактерицидність шкірних покривів щурів за умов дії простих поліефірів (M±m, n=6)

Речовина	Доза, ДЛ50	Мікрофлора*	Бактерицидність*
Контроль		31,5± 3,3	135,6±14,4
прості поліефіри на основі пропіленгліколів			
ПГ-192	1/10	71,5± 7,0*	96,7± 9,3*
	1/100	61,7± 6,8*	106,2±11,5*
ПГ-540	1/10	61,5± 5,8*	91,1± 8,7*
	1/100	57,9± 5,4*	104,7±9,9*
ПГ-1120	1/10	41,5± 3,9*	91,5± 8,3*
	1/100	44,5± 4,7*	106,5±10,3*
ПГ-2106	1/10	77,5± 6,5*	81,9± 7,5*
	1/100	79,1± 7,3*	95,8±9,6*
прості поліефіри на основі гліцеролу та пропіленгліколів			
ГлПГ-498	1/10	37,5± 2,3*	101,4± 9,3*
	1/100	39,7± 3,4*	105,8±13,2*
ГлПГ-1136	1/10	61,5± 5,6*	91,5± 8,7*
	1/100	41,7± 4,2*	103,7±11,9*
прості поліефіри на основі пентолу та пропіленгліколів			
ПнПГ-700	1/10	30,5± 2,8	101,5± 9,7*
	1/100	37,7± 3,5*	107,5±9,4*
ПнПГ-790	1/10	37,1± 3,5*	102,9± 9,7*
	1/100	39,8± 3,4*	109,5±11,6*

Примітка: * –показники виражені у кількості колоній E. coli;
* - p < 0, 05 відносно контролю.

ППЕ на основі пропіленгліколів у дозі 1/10 ДЛ50 збільшували кількість колоній E. coli в середньому майже на 100 % та знижували бактерицидність шкірних покривів в середньому на 33 % Ця група ППЕ у дозі

1/100 ДЛ50 змінювала у такому ж напрямку ці показники, а саме на 93 % та 24 % відповідно. Найбільш виразну дію при цьому чинили ПГ-192 та ПГ-2106. Дія ППЕ на основі гліцеролу та пропіленгліколів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ50 мала аналогічну тенденцію: до збільшення мікрофлори в середньому на 57 % і 29 % та зниження бактерицидності на 29 % і 23 % відповідно. Слід відзначити, що ППЕ на основі пентолу та пропіленгліколів незначно впливали на стан мікрофлори та бактерицидність шкірних покривів. В цілому, ці результати свідчать про пригнічення захисних властивостей шкірних покривів експериментальних тварин за умов тривалого впливу досліджених речовин.

Висновки.

1. Тривале надходження простих поліефірів до організму щурів призводить до порушення неспецифічної резистентності організму, що підтверджується зниженням вмісту клітин-кілерів, порушеннями фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів за рахунок зниження відсотку фагоцитозу, фагоцитарного числа, індексу поглинання та перетравлення стафілококів.
2. Усі групи простих поліефірів на 30-ту добу дії у 1/10 та 1/100 ДЛ50 виявили здатність до збільшення мікрофлори та зниження бактерицидності шкірних покривів, порівняно з контролем.
3. Найбільш виражену імунотоксичну дію чинила група простих поліефірів на основі пропіленгліколів (ПГ-2106, ПГ-540 та ПГ-1120), на основі гліцеролу та пропіленгліколів (ГлПГ-1136) у дозі 1/10 ДЛ50; найменш – прості поліефіри на основі пентолу та пропіленгліколів (ПнПГ-790, ПнПГ-700).
4. Порушення факторів неспецифічного захисту організму щурів за умов тривалої дії ППЕ є однією з ключових ланок негативного впливу речовин на стан імунної системи організму експериментальних тварин.
5. Наслідком негативного впливу ППЕ на неспецифічну резистентність організму є розвиток вторинного імунодефіциту, який виявляється зниженням антиінфекційного, протипухлинного імунітету, форму-

ванням алергійних, аутоімунних реакцій та патологій.

6. Пригнічення (імуносупресія) функцій імунної системи організму щурів підтверджує наявність імунотоксичної дії простих поліефірів.

Перспективи подальших досліджень. Значений характер змін стану імунної системи експериментальних тварин дозволяє говорити про імунотоксичну дію та розвиток дисрегуляторних ефектів простих поліефірів. Імунна стрес-реакція головним чином регулюється ендокринною системою, вивчення стану якої стане предметом наступного блоку досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеева О. Г. Аллергенность и опасность токсических веществ / О. Г. Алексеева // Гигиена и санитария. – 1974. - № 10. – С. 82-85.
2. Богоявленська В. Ф. Вплив забруднювачів довкілля на систему природних кілерних клітин / В. Ф. Богоявленська, А. В. Сташенко, Д. В. Риженко [и др.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. - № 2. – С. 5-9.
3. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія / В. Є. Казмірчук, Л. В. Ковальчук. – Вінниця: Нова книга, 2006. – 528 с.
4. Киндзельский Л. П. Метод определения естественных клеток - киллеров в крови на основе подсчета больших гранулосодержащих лимфоцитов (БГЛ) / Л. П. Киндзельский, А. К. Бутенко, А. С. Зверькова // Информационное письмо. – Киев, 1985.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. - М. - Высшая школа, 1990. – 154 с.
6. Мглинец А. И. Ксенобиотики и токсичные вещества / А. И. Мглинец, Н. В. Кацерникова // Пищевая промышленность. – 2002. - № 10. – С. 74-75
7. Наконечна О. А. Гематологічні та біохімічні показники інтоксикації у щурів за умов дії простих поліефірів / О. А. Наконечна, С. О. Стеценко // Медицина сьогодні та завтра. – 2008. - № 3. – С. 23-27.
8. Рудейко В. А. Гигиеническое нормирование лаурилпропилендиамин в воде водоемов / В. А. Рудейко, М. Н. Кукулина, С. А. Зябарова // Гигиена и санитария. -1982. - № 2. – С. 11-13.
9. Сіренко О. В. Експериментальне вивчення алергених властивостей і впливу на імунобіологічну реактивність синтезованих на основі гліколів ксенобіотиків / О. В. Сіренко, С. В. Павличева, М. А. Вашук // Лабораторна діагностика. – 2005. - №1. – С. 45-47.
10. Х. Фримель. Иммунологические методы / Х. Фримель // - М. : Мир, 1987. – 495 с.
11. Чиркин В. В. , Семенов В. Ф. , Карандашов В. И. Вторичные иммунодефициты / В. В. Чиркин, В. Ф. Семенов, В. И. Карандашов // - М. : Медицина, 1999. – 248 с.
12. Torchilin V. P. Immunoliposomes and PEGylated immunoliposomes: possible use for targeted delivery of imaging agents / Torchilin V. P. // Immunomethods. – 1994. – V. 4, N. 3. – P. 244-258.

УДК 616-099:678. 744. 5:612. 017. 1]-092. 9

СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРОСТЫХ ПОЛИЭФИРОВ

Наконечная О. А.

Резюме. Изучено состояние неспецифической резистентности организма в условиях длительного перорального воздействия простых полиэфиров на организм крыс. Выявлено снижение содержания клеток-киллеров, а также нарушение фагоцитарной активности нейтрофилов за счет снижения процента фагоцитоза, фагоцитарного числа, индекса поглощения

и переваривания стафилококков. Выявленные изменения подтверждают иммунотоксичное действие веществ.

Ключевые слова: простые полиэфиры, неспецифическая резистентность, фагоцитарная активность нейтрофилов, NK- клетки.

UDC 616-099:678.744.5:612.017.1]-092.9

STATE of NONSPECIFIC RESISTANCE of RATS ORGANISM at INFLUENCE of LONG-TERM POLYETHERS ACTION

Nakonechnaya O. A.

Summary. The article showed the experimental data of nonspecific rat organism resistance state at conditions of polyethers peroral action. The result reports decrease in NK-cells contents as well as impairment of phagocyte activity of neutrophils by decrease in phagocytosis percentage, phagocyte index, staphylococci neutrophilic digestion and absorption index. The detected alteration confirm immunotoxic action of substances.

Key words: polyethers, nonspecific resistance, phagocyte activity of neutrophils, NK-cells.

Стаття надійшла 15. 02. 2010 р.

УДК 636.4:612.017

Н. О. Салига

ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОМОДУЛЯТОРА ТИМУСНОГО ПОХОДЖЕННЯ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ІМУНІТЕТУ У ТВАРИН

Інститут біології тварин УААН (Львів)

Робота виконана в рамках науково-дослідної роботи «Вивчити ендокринні та субстратні механізми регуляції обміну речовин у свиней і розробити способи підвищення їх продуктивності» (№ держ. реєстрації 0101U003433).

Вступ. Результати проведених раніше досліджень показали, що пептиди, які містяться в імуномодуляторі тималіні (препарат поліпептидної природи, отриманий шляхом екстракції з тимусу великої рогатої худоби), при взаємодії з поверхневою мембраною Т-лімфоцитів активують експресію специфічних рецепторів і підвищують їх функціональну активність [3, 6]. Цей імуномодулятор володіє імунобіологічною активністю, регулює кількість і співвідношення Т та В лімфоцитів і їх субпопуляцій, посилює фагоцитоз, стимулює реакції клітинного імунітету та імунної відповіді на тимус-залежні антигени. Тималін є ефективним препаратом для корекції вторинної імунологічної недостатності [5, 9, 2]. Але виникає необхідність у підборі оптимальної схеми та дози їх засто-

сування для підвищення імунного статусу і специфічного захисту.

У зв'язку з вищесказаним метою даного дослідження було з'ясувати зміни деяких імунологічних показників в організмі тварин після застосування тималіну у дозі вищій, ніж у попередніх дослідженнях [7, 8]. Дослідними тваринами послужили поросята, за умов стресу при відлученні їх від свиноматок.

Об'єкт і методи дослідження. Дослід проведено на на 2-х групах поросят, одна з яких була контрольною. За 3 дні до відлучення дослідній групі парентерально вводили імуномодулятор тималін у дозі 5 мг на тварину. Контрольній групі замість розчину вказаного препарату вводили відповідну кількість 0,9%-го розчину NaCl. Матеріалом для досліджень служила кров, отримана від поросят у день відлучення та на 7-ий і 14-ий день після відлучення їх від свиноматок.

У цільній крові визначали кількість лейкоцитів (у камері Горяєва), лейкоцитарну формулу, фагоцитарну активність