



УДК 615.216.2:57.089.5.00.5

Б. М. Галкін, О. В. Нікітін*, Т. О. Філіпова,
І. Й. Сейфулліна, Н. В. Шматкова

ВПЛИВ НА ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ КОМПЛЕКСІВ ГЕРМАНІЮ (IV) З САЛІЦИЛАЛЬГІДРАЗОНАМИ ХЛОРБЕНЗОЙНОЇ ТА НІТРОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТ НА МОДЕЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАПАЛЕННЯ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

*Одеський державний медичний університет

Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) — це медикаменти, які широко застосовуються у медицині. Основними показаннями для призначення НПЗЗ є запалення різної природи та локалізації, біль і гарячка. Ці лікарські засоби використовуються також при різноманітних патологічних станах, які характеризуються гострим і хронічним боєм. Проте вони виявляють виражену ульцерогенну, гепатотоксичну або нефротоксичну дію, мають досить високу токсичність [1].

Відомо, що застосування комплексоутворюючих сполук дає можливість підвищити ефективність біологічної дії, запобігти токсичності й іншим побічним проявам [2]. Підбираючи метали і ліганди, можна створити речовини зі спрямованою специфічною активністю та мінімальною токсичністю. Ці принципи були покладені в основу створення нових біологічно активних речовин — комплексу германію (IV) із саліцилальгідразонами хлорбензойної кислоти (Cl-H₂L) та комплексу германію (IV) із саліцилальгідразонами нітробензойної кислоти (NO₂-H₂L). Германій був обра-

ний не випадково, його сполуки вирізняються високою фармакологічною активністю і відносно низькою токсичністю [3; 4].

У попередніх роботах нами були проведені скринінгові дослідження протизапальної активності комплексів германію (IV) із різними лігандами. Показано, що найбільшу ефективність виявляють комплекси германію (IV) із саліцилальгідразонами 3-хлорбензойної кислоти ([Ge(3-Cl-L)₂]) і з саліцилальгідразонами 4-нітробензойної кислоти ([Ge(4-NO₂-L)₂]) [5; 6]. У зв'язку з цим викликає інтерес вплив цих комплексів на вміст медіаторів запалення, зокрема деяких цитокінів, які регулюють імунні та запальні реакції. Основними продуцентами цитокінів є Т-клітини й активовані макрофаги, а також інші лейкоцити, тромбоцити та різні типи стромальних клітин [7].

Запальна реакція, що розвивається, підтримується прозапальними цитокінами, такими як інтерлейкіни: ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8; фактор некрозу пухлин-α (ФНП-α); інтерферон-γ (ІФН-γ). Інші цитокіни, такі як ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13, виявляють протилежну

дію і сприяють гальмуванню запалення [8].

Метою дослідження було вивчення впливу комплексів Ge (IV) із саліцилальгідразоном 3-хлорбензойної кислоти та з саліцилальгідразоном 4-нітробензойної кислоти на вміст прозапальних цитокінів — ФНП-α, ІФН-γ; протизапального цитокіну ІЛ-10 протягом запалення.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на білих безпородних мишах масою 17–22 г на моделі запалення — шестиденного повітряного мішка [9]. У ролі НПЗЗ були використані: [Ge(3-Cl-L)₂] і [Ge(4-NO₂-L)₂], синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів ОНУ ім. І. І. Мечникова під керівництвом проф. І. Й. Сейфулліної. Досліджувані комплекси вводили одноразово у вигляді водної суспензії, стабілізованої твіном-80 внутрішньошлунково, або безпосередньо в мішок через 1 год після ін'єкції зимозану всередину мішка з розрахунку 50 мг/кг.

Вміст цитокінів визначали імуноферментним методом із використанням тест-наборів Anti-



mouse Ready-Set-Go! Cytokine ELISA Kit фірми "eBioscience" (США). При виконанні аналізів керувались інструкцією фірми-виробника. Рівень ФНП- α , ІФН- γ й ІЛ-10 визначали у сироватці крові, селезінці та рідині, отриманій з повітряного мішка. Облік результатів проводили на планшетному фотометрі «Уніплан» (Росія) при довжині хвилі 450 нм.

Сироватку крові одержували загальноприйнятим способом. Ексудат із повітряного мішка відбирали за допомогою шприца, центрифугували і використовували для визначення цитокінів супернатант. Селезінку гомогенізували у 2 мл фізіологічного розчину, центрифугували і використовували для визначення цитокінів супернатант.

Отримані результати опрацьовували методами варіаційної статистики з використанням критерію Фішера — Стьюдента, застосовуючи програму Excel-2000 [10].

Результати дослідження та їх обговорення

Вміст цитокінів визначали у сироватці крові, селезінці та в ексудаті з повітряного мішка, оскільки було важливим проаналізувати зміну вмісту прозапальних й антизапального цитокінів у крові, селезінці (цей орган є продуцентом медіаторів запалення) та й у самому вогнищі запалення, під дією сполук, що вивчалися, та при контрольній патології.

Як видно з отриманих даних (табл. 1, 2), вміст прозапальних цитокінів (ФНП- α та ІФН- γ) значно зростає у тварин із контрольною патологією порівняно з інтактним контролем. Це свідчить про те, що у відповідь на флогогенний агент (зимозан) в організмі дослідних тварин активізуються імунні процеси.

Аналіз отриманих даних показує, що вміст ФНП- α у цілому зменшився при введенні обох досліджуваних речовин (див. табл. 1). Проте слід зазначити, що найбільше зменшення вміс-

Таблиця 1
Вплив комплексних сполук германію на вміст ФНП- α у мишей на фоні запалення, $M \pm m$, $n=8$

Варіант	Сироватка крові, пг/мл	Селезінка, пг/100 мг	Ексудат із мішка, пг/мл
Контроль	70,5 \pm 6,2	63,6 \pm 6,0	—
Неліковані тварини	120,7 \pm 10,8*	185,3 \pm 16,2*	211,7 \pm 17,5
[Ge(4-NO ₂ -L) ₂] per os	91,6 \pm 9,2	108,0 \pm 10,3**	115,5 \pm 12,8**
[Ge(4-NO ₂ -L) ₂] у мішок	112,4 \pm 12,6	167,3 \pm 15,9	152,3 \pm 15,4
[Ge(3-Cl-L) ₂] per os	90,4 \pm 8,9	121,8 \pm 10,1**	137,3 \pm 14,1**
[Ge(3-Cl-L) ₂] у мішок	123,3 \pm 12,8	173,4 \pm 18,2	140,7 \pm 15,7

Примітка. У табл. 1 і 2: * — $P \leq 0,05$ порівняно з контролем; ** — $P \leq 0,05$ порівняно з нелікованими тваринами.

Таблиця 2
Вплив комплексних сполук германію на вміст ІФН- γ у мишей на фоні запалення, $M \pm m$, $n=8$

Варіант	Сироватка крові, пг/мл	Селезінка, пг/100 мг	Ексудат із мішка, пг/мл
Контроль	7,68 \pm 0,77	17,8 \pm 1,5	—
Неліковані тварини	41,4 \pm 3,8*	180,2 \pm 19,0*	165,9 \pm 16,8
[Ge(4-NO ₂ -L) ₂] per os	15,6 \pm 1,7**	74,8 \pm 7,6**	73,8 \pm 7,2**
[Ge(4-NO ₂ -L) ₂] у мішок	32,5 \pm 3,7	144,8 \pm 15,6	137,8 \pm 14,2
[Ge(3-Cl-L) ₂] per os	20,7 \pm 2,3**	88,3 \pm 7,8**	96,6 \pm 10,2**
[Ge(3-Cl-L) ₂] у мішок	35,8 \pm 3,5	151,7 \pm 17,1	133,2 \pm 13,6

ту ФНП- α відбувається при внутрішньошлунковому введенні речовин порівняно з контрольною патологією. При цьому найбільшу активність виявила сполука [Ge(4-NO₂-L)₂], під дією якої кількість ФНП- α знизилася порівняно з контролем на 25 % у сироватці крові, у селезінці — на 41,8 % і на 45,7 % — в ексудаті. Сполука [Ge(3-Cl-L)₂] виявилася найбільш активною при внутрішньошлунковому введенні. Так, кількість ФНП- α у сироватці крові зменшилася на 24,2 %, у селезінці — на 34,2 % і в ексудаті — на 35 %. При введенні досліджуваних речовин усередину мішка кількість ФНП- α знизилася незначно — не більш ніж на 10 % порівняно з контрольною патологією.

Вміст ІФН- γ зменшився у сироватці крові, селезінці й ексудаті з мішка при обох способах введення досліджуваних сполук (див. табл. 2). При введенні

досліджуваних сполук усередину мішка кількість ІФН- γ зменшилась і у сироватці крові, і у селезінці, і в ексудаті не більше ніж на 20 %. Найбільший ефект спостерігався при внутрішньошлунковому способі введення досліджуваних речовин. Так, під дією [Ge(3-Cl-L)₂] кількість ІФН- γ зменшилась на 50, 51 і 41,8 % відповідно у сироватці крові, селезінці та в ексудаті. Під впливом [Ge(4-NO₂-L)₂] вміст ІФН- γ знизився на 62,3 % у сироватці крові, на 58,5 % — у селезінці та на 55,5 % — в ексудаті порівняно з контролем.

Аналіз даних про вміст ІЛ-10 під дією сполук, що вивчалися, та при контрольній патології свідчить про те, що кількість ІЛ-10 збільшується й у сироватці крові, і у селезінці та в ексудаті при обох способах введення (табл. 3). При цьому зберігається така закономірність: найбільший ефект досліджувані сполу-



Таблиця 3

Вплив комплексних сполук германію на вміст ІЛ-10 у мишей на фоні запалення, М±m, n=8

Варіант	Сироватка, крові, пг/мл	Селезінка, пг/100 мг	Ексудат із мішка, пг/мл
Контроль	445±36	564±51	—
Неліковані тварини	350±54	434±45	78±7
[Ge(4-NO ₂ -L) ₂] per os	426±40	530±47	110±12*
[Ge(4-NO ₂ -L) ₂] у мішок	381±34	468±46	88±9
[Ge(3-Cl-L) ₂] per os	415±42	506±50	118±14*
[Ge(3-Cl-L) ₂] у мішок	374±36	470±45	83±8

Примітка. * — P<0,05 порівняно з нелікованими тваринами.

ки виявляють при внутрішньо-шлунковому введенні. Під дією [Ge(4-NO₂-L)₂] вміст ІЛ-10 збільшився на 21,7; 22,1 і 41,0 % відповідно у сироватці крові, селезінці та ексудаті. Під впливом [Ge(3-Cl-L)₂] кількість ІЛ-10 зросла на 18,6 % у сироватці крові, на 16,6 % — у селезінці, на 51,3 % — в ексудаті. При введенні досліджуваних сполук безпосередньо всередину мішка вміст ІЛ-10 підвищується не більше ніж на 15 % порівняно з контрольною патологією.

Отже, при вивченні впливу комплексів [Ge(3-Cl-L)₂] та [Ge(4-NO₂-L)₂] на моделі запалення — шестиденного повітряного мішка — були виявлені загальні закономірності. Обидві досліджувані сполуки пригнічують продукцію прозапальних цитокінів ФНП-α і ІФН-γ й одночасно стимулюють синтез протизапального цитокіну ІЛ-10 як у сироватці крові та селезінці, так і у самому вогнищі запалення — у мішку.

Найбільший вплив на вміст цитокінів досліджувані речовини виявляють при внутрішньо-шлунковому застосуванні, ніж при безпосередньому введенні у вогнище запалення (усередину мішка).

Зважаючи на вплив досліджуваних германієвих комплексних сполук на рівень деяких цитокінів, які переважно синтезуються різними імункомпетентними клітинами, у подальших експериментах доцільно ви-

значити зміни вмісту основних популяцій та субпопуляцій лімфоцитів, а також їх функціональний стан.

Висновки

1. Доведено, що протизапальна активність комплексів [Ge(3-Cl-L)₂] та [Ge(4-NO₂-L)₂] зумовлена впливом на цитокіновий профіль: встановлено гальмування продукції в організмі прозапальних цитокінів ФНП-α і ІФН-γ та стимуляцію синтезу протизапального цитокіну ІЛ-10.

2. Встановлена більш висока активність досліджуваних сполук за умов їх перорального введення порівняно з місцевим застосуванням. Як і зміни рівня цитокінів у сироватці крові та селезінці, це свідчить про участь у запальному процесі не тільки тих імуніцитів, що мігрують у вогнище запалення, але і тих, що знаходяться в інших ділянках організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Насонов Е. Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: терапевтические перспективы / Е. Л. Насонов // РМЖ. — 2002. — Т. 10, № 4. — С. 206-212.
2. Акбаров А. Б. Бионеорганические аспекты особенностей взаимосвязи типа состав-строение-специфическая активность биоконплексов / А. Б. Акбаров, Ю. Я. Харитонов, М. Н. Исламов // Журн. неорг. химии. — 1993. — Т. 38, № 2. — С. 312-327.
3. Биологическая активность германия / Э. Я. Лукевиц, Т. К. Гар, Л. М.

Игнатович, В. Ф. Миронов. — Рига : Зинатне, 1990. — 191 с.

4. Фармакокінетична характеристика координаційної сполуки германію з нікотинамідом / К. Ф. Шемонаєва, В. Й. Кресюн, І. Й. Сейфулліна, С. В. Щербаков // Клін. фармація. — 2001. — Т. 5, № 3. — С. 53-56.

5. Протизапальна активність комплексів германію (IV) з саліцилальгідрозонами нітробензойної кислоти / Нікітін О. В., Галкін Б. М., Сейфулліна І. Й. та ін. // Одес. мед. журнал. — 2003. — № 2. — С. 21-23.

6. Вплив комплексів германію (IV) з саліцилальгідрозонами хлорбензойної та нітробензойної кислот на лейкоцитарну формулу крові при гострому запаленні / О. В. Нікітін, Б. М. Галкін, І. Й. Сейфулліна, Н. В. Шматкова // III Національний з'їзд фармакологів України : матер. наук. праць. — Одеса, 2006. — С. 125-126.

7. Черешнев В. А. Системное воспаление как иммунопатобиологический феномен / В. А. Черешнев, Е. Ю. Гусев // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т. 1, № 2. — С. 17-26.

8. Современные аспекты патогенеза эндотоксического шока / И. М. Салахов, А. И. Ипатов, Ю. В. Конев, М. Ю. Яковлев // Успехи соврем. биологии. — 2003. — Т. 118. — С. 33-50.

9. Vicente A. M. Participation of Heme Oxygenase-1 in a model of acute inflammation / A. M. Vicente, M. I. Guillen, M. J. Alcaraz // Exp. Biol. Med. — 2003. — Vol. 228. — P. 514-516.

10. Горлач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Горлач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — К. : Морион, 2000. — 320 с.

