



УДК 613.16:616.1/.4-036.22

І. Ю. Багмут

## ВПЛИВ ПОЛІОКСИПРОПІЛЕНПОЛІОЛУ М. М. 500 НА КЛІТИННИЙ І ГУМОРАЛЬНИЙ ІМУНІТЕТ У ПІДГОСТРОМУ ДОСЛІДІ

Харківський національний медичний університет

Науково-технічний прогрес сприяє розвитку хімічної промисловості, проте він обумовив її негативний вплив на людину та довкілля. У зв'язку з цим особливої актуальності набувають наукові дослідження з вивчення впливу нових ксенобіотиків на стан імунної системи людини [1; 2]. Значні обсяги та широке впровадження у виробництво й побут поліоксипропіленполіолів потребують розв'язання актуального завдання сучасної експерт-оцінки біологічної активності й небезпеки нових груп сполук та їхній вплив на стан імунобіологічної реактивності [3; 4]. Власне, це й є актуальним підґрунтям вивчення механізмів формування порушень імунної системи від дії на організм хімічних речовин. Це повною мірою стосується Лапролу-504-2-100, який широко використовується у виробництві пластмаси, епоксидних смол, лаків, емалей та ін. [5].

**Метою** даної роботи є вивчення впливу Лапролу-504-2-100 на імунологічну реактивність теплокровних тварин у підгострому експерименті.

### Матеріали та методи дослідження

У роботі використано хімічну речовину з регламентованими

фізико-хімічними характеристиками Лапрол-504-2-100 — М. М. 500.

Вивчення впливу речовини на показники клітинного й гуморального імунітету проводилося на 30 статевозрілих мишах інбредної лінії (СВА×С57BL)F<sub>1</sub>, BALB/C із масою тіла 21–25 г й щурах популяції Вістар з масою тіла 180–200 г, які утримувалися на стандартному раціоні харчування віварію. Постановка підгострого дослідження виконувалася у відповідності з чинними «Загальними етичними принципами проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які відповідають положенням Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Тваринам дослідної групи перорально, за допомогою металевого зонда, щодня вранці натщесерце протягом 45 діб вводили водні розчини Лапролу-504-2-100. Розрахунок необхідної дози речовини проводили за даними про параметри їх гострої токсичності. Для вивчення стану показників імунної системи використовували 1/10, 1/100 й 1/1000 ДЛ<sub>50</sub>. Контрольній групі тварин вводили відповідну кількість питної води.

В експерименті імунологічна перебудова організму оцінювалася за станом клітинної та гуморальної ланок імунітету. Аналіз плазмоцитарної реакції селезінки та лімфатичних вузлів білих щурів проводився за методом Г. А. Гурвича (1969). Для кількісного обліку плазмоцитарної реакції визначалися клітинні елементи у препаратах-відбитках відповідно до рекомендацій М. П. Покровської. Дослідження впливу поліоксипропіленполіолу на стан гуморального й клітинного імунітету проводилося після закінчення підгострого дослідження, коли щурів імунізували еритроцитами барана. Антитілоутворювальну здатність організму тварин оцінювали за рівнем нагромадження у селезінці гемолізін-продукуючих клітин за методом Ерне (N. K. Jerne, A. A. Nordin, 1963). Кооперативну взаємодію клітинного й гуморального імунітету досліджували на мишах інбредних ліній (СВА×С57BL)F<sub>1</sub> відповідно до методичних вказівок з вивчення впливу факторів навколишнього та виробничого середовища на імунобіологічну реактивність. Наприкінці підгострого дослідження мишей імунізували еритроцитами барана. На 4–6-ту добу після введення Т-залежного антиге-



ну видаляли селезінку, визначали селезінковий індекс, загальну кількість ядровмісних клітин (ЯВК) у селезінці й кількість ЯВК на міліграм тканини органа, кількість розеткоутворювальних клітин, реакцію бласттрансформації лімфоцитів у відповідь на клітинний стимул — фітогемаглютинін (ФГА), ліпополісахариди (ЛПС), специфічний алерген, показник ушкодження нейтрофілів, гемолізінпродукуючу функцію ЯВК, антитілоутворювальну й антигензв'язувальну функцію імунокомпетентних клітин. Гомотрансплантаційну активність клітин лімфатичних вузлів оцінювали за рівнем інгібіції алогенного ендоклонієутворення у мишей лінії BALB/C. Функціональну активність Т- і В-лімфоцитів визначали за індексом стимуляції клітин лімфатичних вузлів і спленоцитів мітогенами ФГА й ЛПС у реакції бласттрансформації.

Експресію на лімфоцитах селезінки  $E_1$ -,  $F_c$ -,  $C_3$ -рецепторів вивчали у реакціях  $E$ -,  $EA$ -,  $EAC$ -розеткоутворення (M. Jon-dal et al., 1978; M. Miyama et al., 1978; T. Lyndsten et al., 1981) антигензв'язувальну здатність лімфоцитів досліджували в реакції імунного розеткоутворення (Х. Зауер, 1987). Кількість антитілоутворювальних клітин у селезінці тварин реципієнтів після імунізації еритроцитами барана визначали на 6-ту добу методом Ерне (N. K. Jerne, A. A. Nordin, 1963). Синтез ДНК й білка в лімфоміелоцитарних клітинах селезінки інтактних мишей і мишей, імунізованих еритроцитами барана, вивчали за рівнем вмісту *in vitro* радіоактивних попередників —  $^3H$ -тимідину,  $^{14}C$ -гідролізату білка (Д. Кеннел, 1970).

Після закінчення підгострого дослідження визначали коефіцієнти маси печінки, нирок, селезінки, головного мозку за співвідношенням маси органа у грамах до маси тварини у кілограмах. Результати досліджень були статистично оброблені за допомогою критерію Стьюдента —

Фішера [6] з використанням ЕОМ-ЕС1022; ЕС-1032.

### Результати дослідження та їх обговорення

Відомо, що шкірні покриви беруть участь не лише у формуванні неспецифічної резистентності, але й у розвитку специфічних імунних реакцій щодо забезпечення стабільного клітинного й гуморального імунітету. Вивчення стану автофлори й бактерицидності шкірних покривів щурів супроводжувалося інтенсивним ростом мікрофлори та зниженням бактерицидності шкіри, що є наслідком зниження неспецифічної резистентності організму, стану імунодефіциту у дослідних групах тварин, які підлягали впливу «Лапролів». У результаті отримані дані мали високий кореляційний зв'язок ( $R=+0,93$ ) з показниками фагоцитарної активності нейтрофілів і бактерицидністю шкірних покривів при дії ксенобіотиків у дозі 1/10 ДЛ<sub>50</sub>. З'ясований характер порушень з боку імунної системи на фоні інгібування бактерицидності шкірних покривів і слизових оболонок може бути пов'язаний з розвитком вторинних імунодефіцитних станів і виникненням системної патології в організмі. У свою чергу, це проявляється соматичними й інфекційними захворюваннями: васкулітами, хворобами сполучної тканини, органів дихання, травлення, дерматозів.

Дослідження змін структурного диференціювання імунокомпетентних клітин у лімфатичних вузлах і селезінці щурів виявили пригнічення плазмоцитарної реакції, що супроводжувалося збільшенням процента зрілих плазматичних клітин. Плазмобласти траплялися у вигляді поодиноких клітин. У дещо більшій кількості виявлялися незрілі клітини плазмоцитарного ряду. Результати аналізу цитогам клітин ретикулоплазмоцитарного ряду печінки, селезінки, тимуса, кісткового мозку й пахвинних лімфатич-

них вузлів тварин виявили у цих органах динамічні зміни у диференціюванні клітин за такими групами: ті, що перебувають у стані спокою ретикулярні, базofilні ретикулярні, перехідні ретикулярні, ретикулярні макрофаги, плазмобласти, бласти, незрілі й зрілі плазматичні клітини. Отже, у кістковому мозку, який є постачальником клітин-попередників імуноцитів, а також у тимусі, де клітини-попередники диференціюються в імунокомпетентні Т- й В-лімфоцити, відсоток вмісту плазмоцитів був досить високим. У печінці, селезінці й лімфоцитах, які виконують значну роль щодо фіксації чужорідних антигенів, переважали ретикулоцити, у першу чергу, ретикулярні макрофаги.

Оцінка гемолізінпродукуючої здатності виявила, що дослідні речовини у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ<sub>50</sub> знижували у тварин селезінковий і тимусний індекс, загальну клітинність, кількість ЯВК, загальну кількість імунокомпетентних клітин, кількість літичних концентрацій. Ксенобіотик знижував вміст у крові еритроцитів і лейкоцитів. У селезінці й тимусі відсоток  $E$ -,  $EA$ -,  $EAC$ -імунних розеткоутворювальних клітин збільшували показник ушкодження нейтрофілів і бласттрансформацію лімфоцитів з алергеном, знижували бласттрансформацію з фітогемаглютиніном. Вивчення стану імунної системи у мишей інбредної лінії (CBA×C57BL)F<sub>1</sub>, які перебували під впливом «Лапролів» у підгострому досліді, виявило зниження вмісту антитілоутворювальних клітин у селезінці під час імунізації еритроцитами барана, індексу стимуляції клітин лімфатичних вузлів у реакції БТЛ на ФГА й ліпополісахариді, відсоткового вмісту у лімфовузлах і селезінці експресуючих  $E_1$ -,  $F_c$ -,  $C_3$ -рецепторів лімфоцитів, кількості спленоцитів інтактних й імунізованих еритроцитами барана, які формують розеткоутворення (таблиця).



Таблиця 1

**Вплив Лапролу-504-2-100 в 1/100 ДЛ<sub>50</sub>  
на показники імунітету мишей лінії (СВАхС57ВL)F<sub>1</sub>  
в умовах підгострого досліду, М±m, n=15**

Показник	Контроль	Речовина Лапрол- 504-2-100
Кількість антитілоутворювальних клітин у селезінці	(3,1± ±0,2)·10 <sup>4</sup>	(1,7 ±0,1)·10 <sup>4*</sup>
Інгібіція антитілоутворення, %	—	51,2
РОК, %	53,6±2,0	26,2±2,4*
Індекс стимуляції клітин лімфовузлів у реакції бласттрансформації на ФГА	18,2±1,3	8,0±0,5*
Пригнічення реакції бластної трансформації на ФГА, %	—	57,5
ППН, %	0,020±0,001	0,73±0,04*
Індекс стимуляції в реакції бласттрансформації на ЛПС лімфоцитів селезінки мишей	10,2±0,9	5,9±0,3*
Пригнічення реакції бласттрансформації на ЛПС лімфоцитів селезінки	—	48,9
Експресуючі E-рецептори лімфоцитів, %	18,4±1,3	11,3±0,6*
Експресуючі F <sub>c</sub> -рецептори лімфоцитів, %	12,4±0,7	8,4±0,3*
Експресуючі C <sub>3</sub> -рецептори лімфоцитів, %	54,3±2,2	41,8±2,1
Кількість спленоцитів інтактних тварин, які формують розетки з еритроцитами барана (на 10 <sup>6</sup> клітин)	361±15	236±9
Кількість спленоцитів, імунізованих еритроцитами барана, які формують розетки з еритроцитами барана (на 10 <sup>6</sup> клітин)	(16,4± ±1,3)·10 <sup>3</sup>	(8,5±0,4)× ×10 <sup>6*</sup>

Примітка. \* — відносно контролю.

При дослідженні можливих механізмів пригнічувальної дії речовин на імунні реакції організму було встановлено зниження відсоткового вмісту експресуючих E<sub>1</sub>, F<sub>c</sub>, C<sub>3</sub>-рецепторів лімфоцитів. Тривале введення ксенобіотиків в організм приводило до інгібіції гомотрансплантаційної активності клітин лімфатичних вузлів і селезінки, що має значення у розвитку механізмів гістосумісності органів і тканин. Оцінка гомотрансплантаційної активності клітин лімфовузлів і селезінки підтверджує, що поліоксипропіленполіол Лапрол М. М. 500 здатний стримувати диференціювання й проліферацію Т-лімфоцитів, а також пригнічувати реакцію ендоклонієутворення в імунокомпетентних органах і тканинах. Аналіз розеткоутворення імунними спленоцитами виявив, що чис-

ло антигензв'язувальних клітин, як і відсотковий вміст клітин, що зв'язують 6–8 і більше 8 еритроцитів, було нижче показників контролю. Це свідчить про пригнічення ксенобіотиком імунної відповіді лімфоцитів і функціональної активності при імунізації ксеногенними еритроцитами, що підтверджувалося зниженням загальної кількості відсотка антигензв'язувальних клітин.

Вивчення здатності Т- і В-лімфоцитів до кооперативної взаємодії показало, що у летально опромінених тварин, які отримували 5·10<sup>6</sup> клітин кісткового мозку й 1·10<sup>7</sup> тимоцитів від тварин, що піддавалися впливу ксенобіотиків, формується значно менша кількість антигензв'язувальних клітин порівняно з тваринами, які отримували клітини від інтактних мишей. «Лапроли» М. М. 500 в 1/10 і

1/100 ДЛ<sub>50</sub> інгібували інкорпорацію <sup>3</sup>H-тимідину, <sup>3</sup>H-уридину, <sup>14</sup>C-лейцину до імунокомпетентних клітин, що свідчило про уповільнення процесів обміну ДНК, РНК й білка. Схожа картина обміну нуклеїнових кислот і білка відзначалася й при антигенній стимуляції експериментальних тварин.

Результати досліджень стану імунної системи у підгострому досліді на інбредних мишачих лініях свідчать про зниження антитілоутворювальної, антигензв'язувальної, гемолізінпродукуючої здатності імунокомпетентних клітин під впливом Л-504 в 1/10 і 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. Ці дози речовин інгібували функціональну активність Т- і В-лімфоцитів, їх кооперативну взаємодію при реалізації імунної відповіді на Т-залежний антиген (еритроцити барана). Таким чином, в умовах підгострого впливу ксенобіотики здатні порушувати диференціювання імуноцитів, білковий і нуклеїновий обміни в лімфомієлоїдних клітинах.

Мікроскопічні дослідження препаратів і тканин тварин свідчили про те, що у печінці, серці, нирках, наднирковій залозі, головному мозку, селезінці, спостерігаються дистрофічні й деструктивні процеси. Переважали порушення окисно-відновних процесів і тканинна галексія. Відзначалася пряма залежність інтенсивності структурних порушень від дози впливу.

### Висновки

1. У результаті проведеного експерименту отримано зниження антитілоутворювальної, антигензв'язувальної, гемолізінпродукуючої здатності імунокомпетентних клітин під впливом Л-504 в 1/10 і 1/100 ДЛ<sub>50</sub>; 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> не виявила інгібуючого впливу.

2. При дослідженні можливих механізмів пригнічувальної дії речовин на імунні реакції організму було встановлено зниження відсоткового вмісту експресуючих E<sub>1</sub>, F<sub>c</sub>, C<sub>3</sub>-рецепторів лімфоцитів.

3. Поліоксипропіленполіол — Лапрол-504-2-100 М. М. 500 —



спричиняє значну дію на стан імунобіологічної реактивності, що проявляється в пригніченні показників імунітету тварин, а саме, в інгібіції функціональної активності Т- й В-лімфоцитів, їх кооперативній взаємодії при реалізації імунної відповіді на Т-залежний антиген (еритроцити барана).

4. Мікроскопія тканин тварин свідчила про те, що в печінці, серці, нирках, наднирковій залозі, головному мозку, селезінці під впливом Лапролу-504-2-100 спостерігаються дистрофічні й деструктивні процеси, які призводять до порушень окисно-

відновних процесів і тканинної гіпоксії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Додина Л. Г. Некоторые аспекты влияния антропогенного загрязнения окружающей среды на здоровье населения (обзор) / Л. Г. Додина // Гигиена и санитария. — 1998. — № 3. — С. 48-52.

2. Балаболкин И. И. Влияние экологических факторов на распространность аллергических болезней у детей / И. И. Балаболкин, А. А. Ефимова, Н. В. Авдеенко // Иммунология. — 1991. — № 4. — С. 34-36.

3. Сидоренко Г. И. Санитарное состояние окружающей среды и здоровье населения / Г. И. Сидоренко, Е. А. Можаев. — М.: Медицина, 1987. — 128 с.

4. Воробьев А. В. Общие подходы к определению экологической опасности антропогенных факторов окружающей среды / А. В. Воробьев, В. И. Коровкин, В. П. Падалкин // Гигиена и санитария. — 1991. — № 9. — С. 9-13.

5. Жуков В. И. Сравнительная характеристика структурно-функционального состояния внутренних органов белых крыс под влиянием простых полиэфиров в связи с гигиенической регламентацией их в воде водоемов / В. И. Жуков, Л. А. Бондаренко, О. В. Зайцева // Актуальные вопросы патологической анатомии. — Харьков: ХМИ, 1990. — С. 88-91.

6. Вознесенский В. Л. Первичная обработка экспериментальных данных / В. Л. Вознесенский. — Л.: Наука, 1962. — 82 с.

УДК 615.357-02:591.2:615.015:615.03

Н. І. Волощук

## ВПЛИВ ЕСТРОГЕННОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ОРГАНІЗМУ САМОК ЩУРІВ НА ГАСТРОТОКСИЧНУ ДІЮ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРИЮ, НІМЕСУЛІДУ ТА ЦЕЛЕКОКСИБУ

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

### Вступ

Гастроентеропатія є одним із найтипівіших побічних ефектів у пацієнтів, які приймають нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП). Відомо, що серед споживачів цієї групи засобів переважають жінки, що пов'язано з більшою схильністю до автоімунних захворювань і більш частим використанням цих препаратів для зняття болювого синдрому іншого походження (гінекологічного, запального, неврологічного тощо). Різні етапи розвитку жіночого організму (репродуктивний статус, вагітність, лактація, перед- і постменопаузний періоди), супровідні захворювання, прийом лікарських препаратів супроводжуються досить суттєвим коливанням рівня статевих гормонів. Проте питання, яким чином ці зміни можуть впливати на токсичність НПЗП, і зокрема

на гастротоксичність, залишається відкритим. Тому метою нашої роботи було дослідження різного рівня насиченості організму щурів естрогенами на гастротоксичність сучасних нестероїдних протизапальних засобів (диклофенаку натрію, німесуліду та целекоксибу).

### Матеріали та методи дослідження

Досліди виконані на 160 самках щурів середнього віку (3 міс.), які перебували в стандартних умовах віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Кастрація тварин (оваріектомія) виконувалася під нембуталовим наркозом (40 мг/кг) згідно з загальноприйнятими методиками. Замісну гормонотерапію (ЗГТ) проводили естрадіолу гемігідратом («Естримакс», АО Гедеон Рихтер), 150 мг/кг внутрішньощлунково через 21 день піс-

ля кастрації протягом 14 днів. У частині дослідів статевий гормон вводили інтактним тваринам (без кастрації). Вміст естрадіолу у плазмі крові самок визначали імуноферментним методом стандартним набором DRG Estradiol Elisa фірми DRG (USA) згідно з інструкцією фірми-виробника. Залежно від рівня естрогенів, самок щурів було поділено на кілька груп. Кастровані тварини були виділені в окрему групу (1-ша група). Інші тварини (некастровані та кастровані після замісної гормонотерапії) були поділені на 3 підгрупи за рівнем статевих гормонів згідно з методом процентилів. Другу групу утворили тварини з рівнем гормонів від 0 до 25 процентилів, наступна група (3-тя) — від 25 до 75 і 4-та група — від 75 до 100 процентилів.

Як нестероїдні протизапальні засоби використовували не-

