

Н. І. Семесюк, М. П. Рудик, В. В. Позур, Л. М. Сківка,
В. К. Позур, В. М. Кокозей

Ефекти гетерополіядерного комплексу перехідних металів РО39 в імунній системі мишей

(Представлено членом-кореспондентом НАН України Д. М. Говоруном)

The effect of a heteropolynuclear complex of transition metals PO39 on indices of the immunological reactivity of mice is investigated. PO39 injected in belly cavity causes a decrease of cytomorphologic characteristics of immune system organs with increase in the amount of liver mononuclear leucocytes of mice. The intramuscular injection of PO39 was not shown trustworthy changes of the immunological reactivity of mice.

Перехідні або d-метали за ендегенним вмістом відносять до мікроелементів. У клітині вони здійснюють ферментативний каталіз реакцій синтезу, переносять електрони і вважаються основними факторами структуроутворення та функціонування активних центрів більшості ферментів [1, 2]. Для d-елементів характерним є утворення найбільш стійких і різноманітних комплексних сполук. Мікроелементи в організмі людини перебувають виключно у складі координаційних сполук з органічними лігандами — компонентами тканин і рідин різних фізіологічних систем, включаючи імунну систему [3].

Функціонування імунної системи пов'язане з участю цілого ряду мікроелементів, серед яких важливе значення належить міді та цинку. Останні є кофакторами багатьох ферментів: мідь входить до складу церулоплазміну, цитохромоксидаз, супероксиддисмутаза та ін., цинк бере участь в утворенні і функціонуванні таких ферментів, як карбоангідраза, лужна фосфатаза, РНК-полімераза, і є необхідним для синтезу основного гормону виличкової залози — тималіну [4].

Вихід за межі діапазону оптимальних концентрацій для кожного біометалу *in vivo* обумовлює дефіцит елемента або його токсичний вплив [5]. Протягом багатьох років пошук нових ліків, спрямованих на відновлення гомеостазу мікроелементів, зосереджувався головним чином на органічних сполуках і природних речовинах, при цьому мало уваги приділялось синтетичним координаційним сполукам металів [5].

Наша мета — оцінити вплив новосинтезованої координаційної сполуки — гетерополіядерного комплексу (ГПЯК) перехідних металів РО39 на деякі показники імунологічної реактивності у мишей.

У досліджах використовували білих нелінійних мишей-самок віком 2–3 міс., середньою масою 24–26 г розводки віварію біологічного факультету КНУ ім. Тараса Шевченка. ГПЯК РО39 $[\text{Cu}(\text{en})_2\text{ZnCl}_4] \cdot \text{dmsso}$ синтезований на хімічному факультеті КНУ ім. Тараса Шевченка. Для введення тваринам ГПЯК розчиняли у фізіологічному розчині. Розчин ГПЯК РО39 вводили двома способами: внутрішньочеревно і внутрішньом'язово. Кожній тварині вводили по 200 мкл розчину даної сполуки один раз на добу протягом 3 діб, тваринам контрольної групи — фізіологічний розчин у тому ж об'ємі. Доза препарату на добу становила 0,25 мкг/г, сумарна доза — 0,75 мкг/г. Ця доза в 100 разів нижча від попередньо встановленої нами LD/50 (дані не опубліковані). Для оцінки впливу координаційної сполуки на

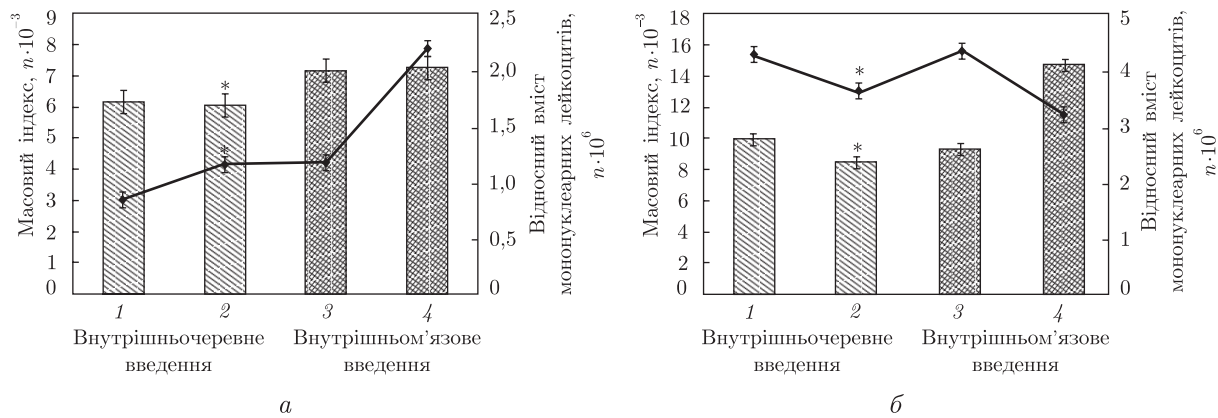


Рис. 1. Цитоморфологічні показники печінки (а) та селезінки (б) при введенні ГПЯК РОЗ9: 1, 3 — контроль; 2, 4 — дослідна група.
* — статистично достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи, $p < 0,05$

імунну систему досліджували масовий індекс лімфоїдних органів, відносний вміст у цих органах мононуклеарних лейкоцитів, а також рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові методом преципітації 4% розчином ПЕГ 6000 [6, 7].

У попередніх дослідженнях нами було показано, що в умовах *in vitro* РОЗ9 чинить помірний дозозалежний токсичний вплив на ефекторні клітини природної резистентності і значною мірою посилює киснезалежний метаболізм фагоцитів.

На першому етапі досліджень визначали ступінь токсичної дії РОЗ9 у зазначеній вище дозі. З цією метою оцінювали масовий індекс печінки, а також відносний вміст у цьому органі мононуклеарних лейкоцитів. Печінка — основний орган, який відповідає за метаболізм чужорідних речовин, а також виконує роль природного біологічного фільтра організму. Це обумовлює високу чутливість цього органа до хімічних сполук, які, потрапивши в організм, метаболізуються з утворенням високореактивних проміжних продуктів. Останні, найімовірніше, здатні ушкоджувати печінку [8].

Як видно з рис. 1, а, при внутрішньочеревному введенні ГПЯК РОЗ9 відбувалося незначне зниження маси печінки в порівнянні з контрольною групою тварин. Це, можливо, обумовлено помірною токсичною дією комплексної сполуки. Поряд з цим збільшувався відносний вміст мононуклеарних лейкоцитів, що, найімовірніше, є результатом розвитку запального процесу.

Аналогічна ситуація спостерігалась при внутрішньом'язовому введенні розчину препарату (див. рис. 1, а).

Таким чином, ГПЯК РОЗ9 справляв помірну токсичну дію на печінку при обох типах введення.

На другому етапі досліджень вивчали реакцію лімфоїдних органів мишей при різних способах введення ГПЯК РОЗ9. Оцінка маси і клітинності лімфоїдних органів дозволяє охарактеризувати генералізовану реакцію імунної системи. При цьому необхідна інформативність досліджень забезпечується тільки при одночасному обліку обох показників, оскільки зростання відносного вмісту лейкоцитів, як правило, є наслідком активації проліферації або міграції лімфоїдних клітин, що свідчить про активацію імунологічної реактивності організму. При цьому збільшення маси лімфоїдного органа може відбуватись не лише за рахунок лімфоїдних клітин, а, наприклад, за рахунок поширення гістіоцитів [9].

Тимус є центральним органом імунної системи, який здійснює регуляторний вплив на реакції як клітинного, так і гуморального імунітету [10, 11].

При внутрішньочеревному введенні РОЗ9 відбувалася незначна інволюція тимуса — в 1,8 раза в порівнянні з контролем, можливо, опосередкована прямою токсичною дією на Т-лімфоцити. Однак здатність ГПЯК долати гематотимічний бар'єр не досліджена. Тому інволюція може бути обумовлена системною токсичною дією препарату.

При внутрішньом'язовому введенні достовірних змін маси тимуса не спостерігалось. Імовірно, внутрішньочеревне введення виявилось більш результативним щодо впливу на тимус через те, що з черевної порожнини препарат потрапив у кров з меншими втратами в порівнянні з внутрішньом'язовим введенням.

Периферичні лімфоїдні органи відповідають за здійснення імунних реакцій на чужорідні антигени, забезпечуючи їх елімінацію. До цієї групи органів імунної системи належить селезінка. Селезінка знаходиться на гематогенних шляхах поширення антигенів, і основна її імунна функція — елімінація антигенів з крові. Більшість клітин у складі селезінки — це В-лімфоцити, які є антитілопродукуючими клітинами [12].

При внутрішньочеревному введенні комплексної речовини РОЗ9 маса селезінки незначно зменшувалася. При цьому знижувався відносний вміст спленічних мононуклеарних лейкоцитів (див. рис. 1, б). Це може бути результатом токсичної дії препарату як по відношенню до лімфоїдних клітин, так і по відношенню до стромальних.

При внутрішньом'язовому введенні достовірних змін маси селезінки не виявлено (див. рис. 1, б).

Важливим показником імунологічної реактивності є рівень ЦК у сироватці крові. Цей показник є відображенням деструктивно-дегенеративних явищ в організмі, з одного боку, оскільки деструктивні процеси в тканинах результуються експозицією великої кількості розчинних антигенів, які нейтралізуються та елімінуються антитілами, що призводить до зростання вмісту ЦК у циркулюючій крові. З іншого боку, вміст ЦК може служити характеристикою процесів біосинтезу антитіл у цілому [13].

При внутрішньочеревному введенні розчину комплексної сполуки РОЗ9 рівень ЦК у сироватці крові мишей дослідної групи зменшувався у 2,8 раза в порівнянні з контрольною групою тварин. При цьому способом введення ГПЯК РОЗ9 справляв гепатотоксичну дію (див. рис. 1, а) і здійснював негативний вплив на селезінку тварин (див. рис. 1, б). Зважаючи на те що основними подіями, які відбуваються в селезінці, є індукція Т-залежної В-клітинної імунної відповіді, можна припустити, що зниження відносного вмісту спленічних мононуклеарних лейкоцитів відбувається за рахунок зменшення кількості В-клітин. Це підтверджує і факт зниження рівня ЦК у сироватці крові тварин даної групи, що може бути наслідком токсичної дії досліджуваної комплексної сполуки на клітини-антитілопродукенти.

При внутрішньом'язовому введенні розчину комплексної сполуки РОЗ9 рівень ЦК у сироватці крові мишей дослідної групи знижувався в 4,6 раза в порівнянні з контрольною групою. Внутрішньом'язове введення призводило до негативних змін цитоморфологічних показників як печінки, так і селезінки (див. рис. 1). Необхідно зазначити, що як зниження рівня ЦК, так і зниження відносного вмісту мононуклеарних спленоцитів при внутрішньом'язовому введенні РОЗ9 було більш істотним у порівнянні з внутрішньочеревним.

Таким чином, зниження рівня ЦК у сироватці крові мишей дослідної групи при внутрішньочеревному і внутрішньом'язовому способах введення розчину ГПЯК РОЗ9, імовірно,

є результатом токсичної дії даної сполуки на клітини імунної системи, що відповідають за антитілогенез. Однак висловлене припущення потребує експериментальної перевірки.

1. Григор'єва Г. С., Киричок Л. М. Координаційні сполуки d-перехідних металів // *Соврем. пробл. токсикології*. – 1998. – № 1. – С. 21–24.
2. *Металовмісні лікарські препарати* / В. В. Суховєєв, П. Г. Сенченко, Г. О. Ковтун, С. О. Приплавко. – Київ: ІБОНХ НАН України, 2000. – 287 с.
3. Карнаушов О. І., Копілевич В. А., Мельничук Д. О. *Загальна хімія: Підручник*. – Київ: Фенікс, 2005. – 840 с.
4. Терлецкий Е. Д. *Металлы, которые всегда с тобой. Микроэлементы и жизнеобеспечение организма*. – Москва: Знание, 1986. – 144 с.
5. Крисс Е. Е., Волченкова И. И., Григорьева А. С. *Координационные соединения металлов в медицине*. – Киев: Наук. думка, 1986. – 216 с.
6. Сківка Л. М., Позур В. К., Сенчило Н. В. та ін. Реакція лімфоїдних органів мишей на тейхоєву кислоту *Staphylococcus aureus* Wood 46 у нормі і при пухлинному рості // *Доп. НАН України*. – 2007. – № 9. – С. 145–149.
7. *Энциклопедия клинических лабораторных тестов* / Под ред. Н. Тица: Пер. с англ. под ред. В. В. Меньшикова. – Москва: Лабинформ, 1997. – 960 с.
8. *Физиология человека: В 3 т.: Пер. с англ.* / Под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. – 3-е изд. – Москва: Мир, 2004. – 228 с.
9. Cowell R. L., Dorsey K. E., Meinkoth J. H. Lymph node cytology // *Vet. Clin. North. Amer. Small. Anim. Pract.* – 2003. – **33**, No 1. – P. 47–67.
10. Yarilin A. A., Belyakov I. M. Cytokines in the thymus: production and biological effects // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – **11**, No 4. – P. 447–464.
11. Hong R. The thymus. Finally getting some respect // *Chest. Surg. Clin. N. Am.* – 2001. – **11**, No 2. – P. 295–310.
12. *Імунологія: Підручник* / А. Ю. Вершигора, Є. У. Пастер, Д. В. Колибо та ін.; За заг. ред. Є. У. Пастер. – Київ: Вища шк., 2005. – 599 с.
13. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE // *J. Clin. Pathol.* – 2000. – **53**, No 6. – P. 424–432.

Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 20.02.2008