

Чернівецький державний університет ім.Ю.Федьковича

На правах рукопису

БАВАК Світлана Віталіївна

**КОРЕГУЮЧА ДІЯ ЕТОНІУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ТА ПРИРОДНОЇ МОДЕЛЕЙ ІМУНОДЕФІЦИТУ**

03.00.04 - Біохімія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Чернівці - 1997



00376138 (S)

Робота виконана на кафедрі біохімії і експериментальної екології та на кафедрі зоології та фізіології Чернівецького державного університету ім.Ю.Федьковича

Наукові керівники: доктор біологічних наук, професор
Марченко Михайло Маркович,
доктор медичних наук, професор
Сандуляк Леонтій Іванович

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Войціцький Володимир Михайлович,
доктор біологічних наук, професор
Мислицький Валентин Францович

Провідна установа: Інститут біохімії ім.О.В.Палладіна НАН
України

Захист відбудеться "27" червня 1997 р. о 14⁰⁰ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради К 07.01.03 при Чернівецькому державному університеті ім.Ю.Федьковича (274012, м.Чернівці, вул. Коцюбинського, 2).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Чернівецького державного університету ім.Ю.Федьковича (274012, м.Чернівці, вул. Л.Українки, 23).

Автореферат розісланий "26" травня 1997 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради, кандидат
біологічних наук

Г.П. Копильчук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Глобальне розповсюдження в довкіллі агентів різної природи внаслідок антропогенної діяльності створює проблему сумісної дії їх на живі системи. Довготривалий і комплексний вплив радіаційно-хімічних чинників в малих дозах на організми може викликати непередбачувані наслідки. Реальна небезпека виникає при адитивності та особливо при потенціюванні взаємодії уражаючих факторів (Варабой В.А., 1990).

Вченими проводяться багаточисельні наукові дослідження (Kamal A., Erdinger L., 1989; Lopez J., Pena A., 1992; Аклеев А.В., 1995) щодо стану кровотворної та імунної систем, що є найбільш чутливими до дії радіації та ксенобіотиків. Показано, що при таких ураженнях, як в експериментальних, так і в природних умовах, порушується кооперація різних ланок цих систем, знижується загальна резистентність організмів. При хронічних опроміненнях та отруєнні сполуками металів часто спостерігаються довготривалі персистуючі імунodefіцити (Gingrea R., Baba I., 1989; Кустов В.В., Тиунов Л.А., 1989; Васин Н.В., Чернов Ю.Н., 1991).

Першого значення в таких умовах набуває пошук протекторних речовин з нетоксичними властивостями та відсутністю побічних ефектів при тривалому застосуванні. В природних умовах не завжди відома вся гама компонентів, їх комбінативність та дозволяє переваження на живі системи. Тому актуальним є пошук речовин, які б сприяли підвищенню резистентності уражених організмів, незалежно від природи агентів, що викликали пригнічення захисних сил організму.

Етоній - препарат бісчетвертинних амонієвих сполук - синтезований в Чернівецькому медінституті (Лопушанський А.И., Денисенко В.П., Писько Г.Т., 1967, 1973). Показано, що він є високоефективною, антиоксидантною та малотоксичною речовиною (Мещеряков М.Ф., 1991, 1995).

Враховуючи властивості етонію, цікавим було вивчення його захисної дії в умовах експериментальної (радіаційно-хімічної) та природної (тварини-гіпотрофік) моделей імунodefіциту на клітинному та субклітинному рівнях.

Мета і основні завдання дослідження. Метою даної роботи було вивчення корегуючої дії етонію на організми тварин в умовах

експериментальної та природної моделей імунodefіциту.

Відносно до мети поставлено такі завдання:

1. Дослідити стан периферичної крові та показники імунологічної реактивності і неспецифічної резистентності лабораторних тварин:

- а) при рентгенівському опроміненні малими дозами;
- б) при хронічній інтоксикації нітратом свинцю;
- в) при хронічній комбінованій сумісній дії радіаційно-хімічних чинників.

2. Вивчити показники неспецифічної резистентності тварин-гіпотрофіків.

3. З'ясувати дію етонію в умовах експериментального та природного імунodefіциту.

4. Дослідити вплив етонію на субклітинному рівні.

Наукова новизна та практична значимість роботи. Виявлено, що за умов комбінованої сумісної дії рентгенівського опромінення (сумарна доза $5,4 \cdot 10^{-2} \text{ Кл} \cdot \text{кг}^{-1}$) та нітрату свинцю (20 мг/кг) протягом 30 діб на організм тварин виникає пригнічення імунологічної реактивності, неспецифічної резистентності та досліджуваних показників периферичної крові. При цьому проявляється модифікуюча посилююча дія нітрату свинцю по відношенню до впливу рентгенівського опромінення.

Показано, що етоній в дозі 2 мг/кг виявляє корегуючу дію в умовах експериментальної (радіаційно-хімічної) та природної (тварини-гіпотрофіки) моделей імунodefіциту, яка проявляється в підвищенні резистентності уражених організмів.

Виявлено, що етоній впливає на окремі характеристики генетичної інформації, зокрема РНК-полімеразної активності та обміну ядерних білків.

Одержані дані дозволяють розширити уявлення щодо механізму дії етонію в умовах експериментальної та природної моделей імунodefіциту і дають можливість використовувати його в аналогічних станах організмів, незалежно від природи агентів, що їх викликали.

Основні положення, що виносяться на захист.

За умов експериментального і природного імунodefіциту у тварин має місце:

- пригнічення еритропоезу, пригнічення та дисбаланс регуляторних ланок клітинної та гуморальної резистентності організмів;

- виражена захисна дія етонію в дозі 2 мг/кг на клітинному та субклітинному рівнях.

Особистий внесок дисертанта. Автором дисертаційної роботи особисто здійснювалась підготовка та проведення експериментів. Аналіз та обговорення проведені спільно з науковими керівниками. Друковані праці підготовлені за безпосередньою участю автора.

Апробація роботи. Основні результати роботи викладені на Республіканській науково-практичній конференції по тваринництву і ветеринарній медицині (Вітебськ, 1994), XIV з'їзді Українського фізіологічного товариства (Львів, 1994), Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографо-анатомів України "Актуальні питання морфології" (Івано-Франківськ, 1994), Міжнародному Конгресі "Development toward the 21st Century" (Netherlands, 1995), наукових конференціях (Воронеж, 1993; Чернівці, 1993, 1994, 1995; Київ, 1994).

Публікації. Основний зміст дисертаційної роботи викладено в 17 наукових працях.

Структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 149 сторінках машинописного тексту. Робота складається з вступу, огляду літератури (4 розділи), матеріалів та методів дослідження, результатів та обговорення (6 розділів), заключення, висновків та списку літератури (280 джерел). Робота містить 18 рисунків та 16 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Об'єкти і методи дослідження. Першу серію дослідів проводили на 108 білих лабораторних щурах Вістар віком 3 місяці і початковою масою $205,6 \pm 20,2$ г. Тварини підлягали опроміненню на пересувній рентгенівській діагностичній установці (12 П 5) з потужністю $2,58 \cdot 10^{-4}$ Кл*кг⁻¹ щоденною одноразовою дозою $18 \cdot 10^{-1}$ Кл*кг⁻¹ (сумарна доза опромінення - $5,4 \cdot 10^{-2}$ Кл*кг⁻¹). Тваринам перорально вводили нітрат свинцю - щоденна доза 20 мг/кг. На фоні комбінації радіації із сполукою металу щурам перорально вводили 0,1 % розчин етонію (2 мг/кг).

Другу серію дослідів проводили на поросятах нормо- та гіпотрофіках 5-денного віку з початковою масою 1650 ± 210 г та 790 ± 100 г.

Гематологічні показники (еритроцити, гемоглобін, гематок-

рит, кольоровий показник, лейкоцити, лейкограму, тромбоцити) визначали на аналізаторі Beckman System E 2A. Кількість лімфоцитів з аномальними ядрами підраховували за методом Awa A. (1978).

Концентрацію заліза в сироватці крові досліджували за допомогою діагностичного набору Liquid-STAT Ira/IBC Reagent, який базується на методі визначення концентрації заліза у відновленій формі без попереднього етапу депротеїнізації.

Кількість Т- і В-лімфоцитів визначали за допомогою сонтанних розеток з еритроцитами баранів (E-PYK) та еритроцитами миші (EAC-PYK). Кількість теофілін-резистентних лімфоцитів (субпопуляція Т-клітин, що володіють хелперною активністю - Th) визначали шляхом підрахування кількості E-PYK, після попередньої інкубації клітин з теофіліном на протязі 1,5 год. Рівень теофілін-чутливих Т-лімфоцитів (субпопуляція клітин, що володіють супресорною активністю - Ts) визначали як різницю між кількістю загальних E-PYK і Т-хелперів (Bianco C., 1970; Jondal M., 1972).

Кількість сироваткових імунoglobulinів (IgA, IgM, IgG) ідентифікували за допомогою радіальної імуні дифузії (Mancini G., 1965).

Протеїнограму отримували за допомогою електрофорезу на агарозній пластинці.

Бактерицидну активність сироватки крові (BACF) визначали фотонейлометричним методом за Смирноюю О.В. та Кузьміною Т.А. (1966).

Фагоцитарну активність (ФА) нейтрофілів та фагоцитарне число (ФЧ) - методом відновлення нітросинього тетразолію (Марціфел Р.П., 1982).

Лізоцимну активність (ЛА) визначали нефелометричним методом (Дорофейчук В.Г., 1968).

Титр нормальних антитіл - методом Вухаріна О.В. та Луді А.П. (1977).

Для дослідження впливу етонію на деякі показники нуклеїнового та білкового обміну в клітинах тимуса тварин з пригніченою резистентністю використовували наступні методи.

Підготовку тканини тимуса для виділення субклітинних фракцій проводили за Kau K. (1972).

Ядра виділяли за модифікованою методикою Кюля (Дмитрієва Н.П., 1968). Очистку ядерного матеріалу проводили в градієнті щільності сахарози 0,5 % детергенту тритону X-100. Нативність

ядер контролювали мікроскопічно. В воді інгібітора протеолітичної активності використовували фенолметилсульфонілфторид.

Рістони і нерістонові білки (НГВ) отримували шляхом хроматографії на оксиапатиті з попередньо виділеного дезоксирибонуклеоспептиду (ДНП) (MacGillivray, 1972). Фракції збирали по поглинанню при 280 нм під контролем проточного спектрофотометру "vicord-2" ("LKB", Швеція) з підключенням до нього самописця.

Концентрацію білка визначали за Лоурі (Lowry, 1951).

Вивчення активності синтезу рістонів та НГВ проводили в системі *in vitro* з використанням суміші ^{14}C -амінокислот гідролізату білка хлорели (питома активність 40 мкКі/мг атом С, концентрація 2,7 мкКі/мл). В аліквотах, що служили для визначення радіоактивності, білок осаджували ацетоном (1:8 v/v) і білкову суспензію наносили на фільтри типу Whatman 3MM. Вимірювання радіоактивності робили в толуольному сцинтиляторі ЖС-107 на рідинному лічильнику Beta-1.

Виділення РНК-фракцій, рН 7,0 і рН 8,0, проводили за методом Самаріної О. (1991).

Вміст РНК в ядрах визначали за Дачевим Р.Г. і Марковим Г.Г. (1960).

РНК-полімеразну активність визначали за допомогою міченого попередника ^{14}C -УТФ ("Ser, Mob. Maru", Франція).

Достовірні зміни досліджуваних показників вираховували за критерієм Стьюдента. Коефіцієнт комбінованої сумісної комплексної дії (Ккскд) вираховували за методом Кагана Ю.С. (1973).

На представлених таблицях і рисунках використані такі скорочення: К - контроль; Оп - рентгенівське опромінення; Рв - нітрат свинцю; Ет - етоній.

Результати досліджень на їх обговорення. Рентгенівське хронічне опромінення сумарною дозою $5,4 \times 10^{-2} \text{ Кл} \cdot \text{кг}^{-1}$ згідно з Кузнім А.М. (1991) є граничною дозою, яка ще вважається малою.

Експериментальні дослідження Казачкова В.І. та Гаспорої З.Н. (1992) показали модифікуючі властивості нітрату свинцю в різних дозах по відношенню до ембріотоксичної дії хлористого кадмію.

Тому доцільно було вивчити зміни в організмах тварин за опромінення вказаною дозою, та модифікацію цих процесів при комбінації з хімічним агентом.

Наші експериментальні дослідження виявили високу чутливість периферичної крові та імунної системи організмів до дії як радіації, так і нітрату свинцю (20 мг/кг). Однак зміни у двох випадках мали в основному різнонаправлений характер (рис. 1).

За дії рентгенівського опромінення в організмі лабораторних щурів виявлено достовірне пригнічення еритропоєзу; тромбоцитопенію; омолодження клітин нейтрофільного ряду. В крові опромінених тварин з'явилися базофіли. Виявлено лейко- та лімфопенію, що свідчить про пригнічення резистентності організму.

Відомо, що лімфоцити є найбільш радіочутливими клітинами організму, які зберігають отримані пошкодження на протязі тривалого часу (Колубаєва С.Н. і др., 1990). Ряд авторів вважає, що підрахунок числа лімфоцитів з аномальними ядрами може використовуватись для діагностики опроміненості організму та важкості променевого ураження (Анкина М.Л., 1991; Вєчков Н.П., 1991).

Наші дослідження показали, що кількість лімфоцитів з аномальними ядрами в периферичній крові у опромінених тварин збільшувалась в порівнянні з контролем в 4,5 рази (табл. 1). Це свідчить про те, що хронічне опромінення викликає накопичення внутрішньоклітинних змін, яке може проявитися у вигляді тих чи інших захворювань у віддалені непередбачувані строки.

Рентгенівське опромінення призвело до порушень кооперації між ланками клітинного та гуморального імунітету уражених організмів. Так, загальна кількість розеткоутворюючих Т-лімфоцитів зменшилась на 19,1 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем за рахунок зменшення кількості субпопуляцій лімфоцитів, що володіють хелперною та супресорною активністю. В напрямку пригнічення змінювалась і гуморальна ланка імунної відповіді. Кількість ГАС-РСК зменшилась на 30,3 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Зменшилась продукція нормальних антитіл. В глобулінових фракціях білків сироватки крові знизився вміст γ -глобулінів. Достовірно зменшилась кількість імуноглобулінів класу М та G.

За опромінення пригнічувалась і неспецифічна резистентність тварин: кількість фагоцитуючих нейтрофілів зменшилась на 18,5 % ($p < 0,05$), поглинаюча активність фагоциту - на 31,8 % ($p < 0,05$). Аналогічна картина спостерігалась щодо бактеріцидної та лізоцимної активності сироватки крові (рис. 1).

Такий стан системи крові і специфічного та неспецифічного захисту організмів призвів до морфологічних змін в органах: ши-

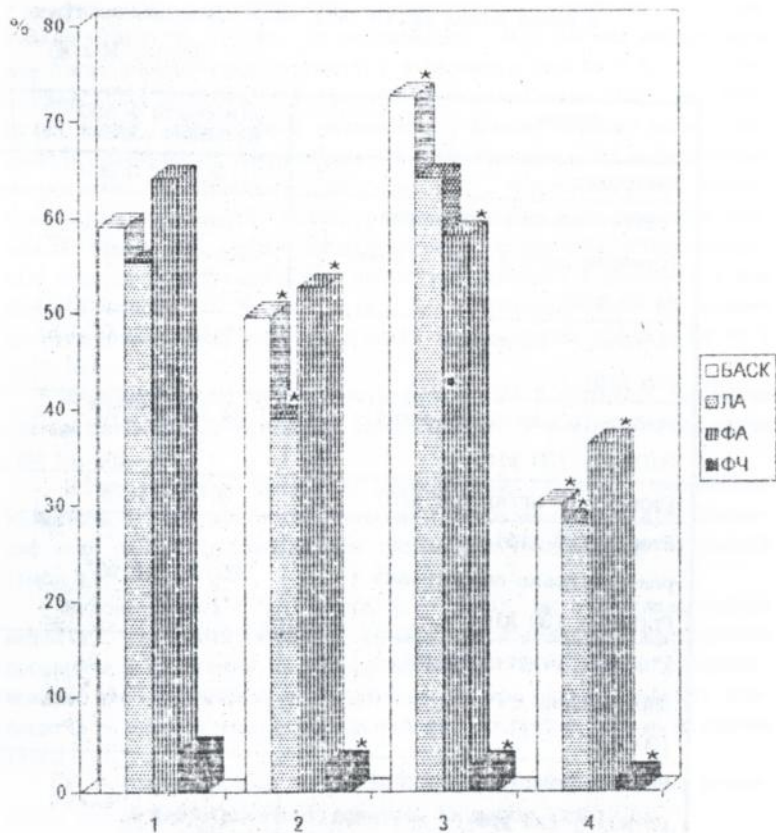


Рис. 1. Показники неспецифічної резистентності білих щурів (n=12)
1 - К, 2 - Оп, 3 - Рь, 4 - Оп + Рь
* - достовірність відносно контролю

Таблиця 1

Кількість лейкоцитів з аномальними ядрами
в крові білих щурів всіх експериментальних груп
(n=12, M ± m)

Групи	Лімфоцити з аномальними ядрами (%)
Контроль	3,00 ± 0,30
Рентгенівське опромінення (сумарна доза $5,4 \cdot 10^{-2}$ Кл*кг ⁻¹ за 30 діб)	13,45 ± 2,70*
Pb(NO ₃) ₂ - 20 мг/кг (30 діб)	10,32 ± 2,30*
Рентгенівське опромінення + Pb(NO ₃) ₂ (30 діб)	24,50 ± 3,10*
Етоній - 2 мг/кг (30 діб)	3,05 ± 0,37
Етоній (30 діб) --> рентгенівське опромінення + Pb(NO ₃) ₂ (30 діб)	20,90 ± 2,90*
Етоній + рентгенівське опромінення + Pb(NO ₃) ₂ (30 діб)	11,40 ± 2,44*
Рентгенівське опромінення + Pb(NO ₃) ₂ (30 діб) --> етоній (30 діб)	10,20 ± 1,72*

* - достовірність відносно контролю

товидній залозі, легенях, лімфовузлах (табл. 2).

Інтоксикація нітратом свинцю (20 мг/кг) протягом 30 діб викликала в основному підвищення величин досліджуваних показників.

Так, щодо характеристики імунологічної відповіді, то загальна кількість Е-РУК не змінювалась. Але за цим намічалась одночасне пригнічення-супресії Т-лімфоцитів (на 19,3 %, $p < 0,05$) і стимуляція активності Т-лімфоцитів-хелперів (на 16%, $p < 0,05$). Пригнічення Т-супресорної активності у даному випадку можна пояснити селективним блокуванням SH-груп структур, що локалізовані на поверхні Т-супресорів (Сидоренко Р.И., Федосеева А.Н., 1989). Комбінація взаємодій хелперів та супресорів може зумовити нормальну відповідь, гіпо- та гіперпродукцію антитіл. Гіперпродукція антитіл відбувалась при високій активності Т-хелперів і при низькій активності Т-супресорів. Це підтверджується і нашими дослідженнями. Титр антитіл в даній групі тварин зростає на 40 % ($p < 0,05$).

Активність ЕАС-РУК збільшувалась на 27 % ($p < 0,05$). Бізвласно ознаки активації В-клітинної ланки імунітету з підвищенням рівня IgM та IgG.

В глобулінових фракціях сироваткових білків зменшувалась кількість β -глобулінів та збільшився вміст α_2 -глобулінів. Неспецифічний захист інтоксикованих тварин має тенденцію до активації (рис. 1).

Відомо (Borella P., Manni S., 1990), що іони таких важких металів, як кадмій, свинець, нікель, хром володіють властивістю проникати в лімфоцити чи прикріплюватись до їхньої поверхні. Можливо це і приводило до збільшення (у 3,4 рази) кількості лімфоцитів з аномальними ядрами у тварин, отруєних сполукою свинцю (табл. 1).

У тварин, отруєних нітратом свинцю, спостерігали при розвитку порушення пігментації печінки та нирок (табл. 2).

Враховуючи дані літератури, які свідчать про те, що свинець конкурує і заміщує в клітинах кальцій, впливає на активність ферментів, синтез ДНК та РНК (Chowdhury B., Lopez-Costa J., 1991; Ярушкин В.Ю., 1992), а радіаційний вплив також порушує молекулярні структури і взаємодії в клітинах (Іванов В.В., 1989; Jablonska L., 1992), можна припустити, що комбінована дія радіації і сполуки свинцю приведе до серйозних наслідків, особливо

Таблиця 2

Морфологічні зміни в організмі
експериментальних щурів (n=12)

Групи	K	Et	Op	Pb	Op + Pb	Et --> (Op+Pb)	Et + (Op+Pb)	(Op+Pb) --> Et
Вираження змін								
Розростання щитовидної залози			++		++	+		
Утворення на легенях			++		++ ++	++	+	+
Збільшені лімфовузли			++ ++ +	++	+++ +++ +++ +	+++ +++	++	++
Рожево-бурі плями на печінці				++ +	++ ++	+++	+	+
Порушення лігментації на нирках				++ +	++ ++	++		+
Ерозивні прояви в слизовій шлунку та кишківника			+	+	++ ++	++		

"+" - наявність зміни в органі в одному випадку

щодо стану імунної системи.

Виявилось, що поєднана дія досліджуваних радіаційно-хімічних чинників не є простою сумою ефектів двох окремих впливів. При взаємодії рентгенівського опромінення та нітрату свинцю в багатьох випадках спостерігали модифікуючу посилюючу дію солі металу по відношенню до дії радіації. Коефіцієнт комбінованої сумісної дії на організм тварин щодо досліджуваних показників переважно більший за 1. Це свідчить про потенційний характер радіаційно-хімічної взаємодії.

У таких уражених тварин спостерігали пригнічення показників системи крові, специфічної та неспецифічної резистентності аналогічно з тваринами, ураженими лише рентгенівськими променями. Але вираженість цього процесу набагато більша, ніж за окремої дії (рис. 1). Ця група тварин мала найбільше змін у морфології внутрішніх органів (табл. 2).

Досліджувані показники імунологічної реактивності та неспецифічної резистентності свідчать про імунодефіцитний стан уражених організмів, які і служили експериментальною моделлю імунодефіциту.

Для вивчення корегуючої дії етонію на організми з експериментальним імунодефіцитом ми використовували три варіанти його застосування.

1 варіант. Лабораторним щурам щоденно перорально вводили 0,1 % розчин етонію (2 мг/кг) на протязі 30 діб, після чого тварини підлягали 30-денному одночасному ураженню радіацією та нітратом свинцю. Дослідження показали, що застосування етонію до взаємодії опромінення і солі металу не проявляло позитивного ефекту і не було доцільним. Можливо це пов'язано з тим, що за 30 днів, на протязі яких організми уражались чинниками, етоній був виведений з організму.

2 варіант. Етоній вводили тваринам на протязі 30 діб одночасно з радіаційно-хімічним ураженням.

В даній групі тварин спостерігали достовірне збільшення кількості еритроцитів на 31,0 %, вмісту гемоглобіну, гематокриту та кольорового показника на 40,0, 39,7 і 12,5 % відповідно порівняно з ураженими тваринами. Зросла кількість заліза в периферичній крові.

У тварин активувалась продукція лейкоцитів, про що свідчить достовірне збільшення (на 35 %) кількості лейкоцитів порівняно з

ураженими тваринами.

Відмічена тенденція до нормалізації кількісного співвідношення різних видів лейкоцитів.

Цікаві зміни відбулися з лімфоцитами, що мають ансмальні ядра. Їх кількість достовірно менша порівняно з ураженими організмами у 2,4 рази. Отже етоній впливає на біохімічні процеси, які захищають клітину від пошкоджуючих впливів чинників.

Збільшилась здатність Т-лімфоцитів до утворення спонтанних роветів. В кількісному відношенні значення Т-хелперів і Т-супресорів наближались до контрольних величин. Бажливо, що коефіцієнт співвідношення Th/Ts практично не відрізнявся від значення контрольної групи. Це говорить про те, що зберігалась нормальна кооперація різних субпопуляцій Т-лімфоцитів, що є важливим для нормальної імунної відповіді.

Кількість ЕАС-РУК зростала в 2,1 рази порівняно з ураженими тваринами (рис. 2).

У тварин даної групи спостерігали збільшення кількості сироваткових білків γ -фракції. В таких організмах синтезувалось в 1,5 рази більше IgM і в 1,7 рази - IgG (рис. 3).

Показник титру антитіл свідчить про нормальну реакцію організму на антигенне ураження.

Покрашились показники неспецифічного захисту порівняно з ураженими тваринами. Функціональна активність нейтрофілів і їх поглинаюча здатність лише на 20,0 та 21,1 % відповідно нижча за показники контрольної групи. Бактерицидна та лізоцимна активність сироватки крові не різнились з даними контрольної групи.

Отже, організми тварин, які одночасно з дією уражаючих чинників отримували етоній в дозі 2 мг/кг, за своїми кількісними характеристиками крові та імунної системи позитивно відрізнялись від тварин, що підлягали дії радіації та нітрату свинцю.

3 варіант. Лабораторні тварини, що на протязі 30 діб підлягали комбінованій уражаючій дії радіаційно-хімічних чинників, наступні 30 діб отримували 0,1 % розчин етонію (2 мг/кг).

Аналізуючи дані досліджень, ми констатуємо позитивні зміни в стані еритропоезу, імунологічної реактивності та неспецифічної резистентності, які мають схожий характер із змінами в другому варіанті. Вони можуть бути зумовлені позитивним впливом етонію чи самовідновлюючими процесами організмів за 30 днів після ураження чинниками. Для з'ясування ролі етонію у даному випадку ми

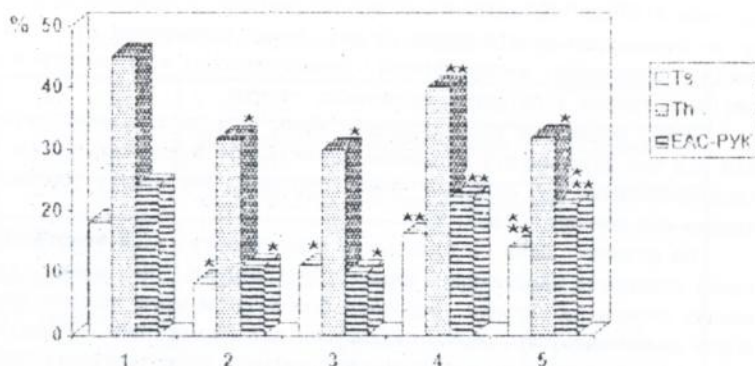


Рис. 2 Вплив етоню на кількість Т- і В-лімфоцитів периферичної крові щурів (n=12)

1- К, 2- Оп+Рв, 3- Ет→Оп+Рв, 4- Ет+Оп+Рв, 5- Оп+Рв→Ет

* - достовірність відносно контролю.

** - достовірність відносно 2 групи

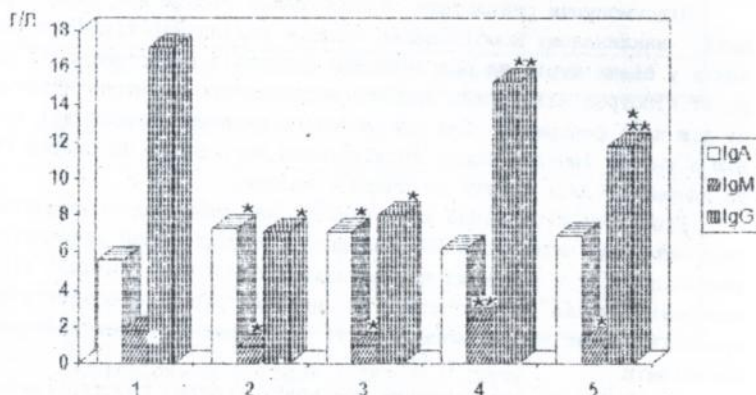


Рис. 3. Вплив етоню на вміст імуноглобулінів в сироватці крові білих щурів (n=12)

1- К, 2- Оп+Рв, 3- Ет → Оп+Рв, 4- Ет+Оп+Рв, 5- Оп+Рв → Ет

* - достовірність відносно контролю

** - достовірність відносно 2 групи

порівняли стан неспецифічної резистентності тварин, що отримували етоній після радіаційно-хімічного раження і уражених тварин, що не отримували етоній через 30 днів після припинення дії чинників. Показники неспецифічної резистентності відрізняються в цих двох групах і свідчать на користь етонію.

Отже, очевидний тералевтичний ефект від застосування етонію під час і після дії уражаючих агентів. Це підтверджувалось і спостереженнями за морфологічними змінами внутрішніх органів тварин при розтині (табл. 2).

За останні роки в сільському господарстві відмічено зростання кількості народження тварин-гіпотрофіків. Це явище дає значні економічні втрати. Поросята-гіпотрофіки мають низьку природню резистентність, легко піддаються дії екологічних чинників. Тому цікаво було в умовах природної низької резистентності тварин застосувати етоній для підвищення життєдіяльності молодняка з ознаками гіпотрофії.

Результати експериментальних досліджень щодо показників неспецифічної резистентності тварин-гіпотрофіків, що отримували етоній (2 мг/кг) представлені в таблиці 3. Як свідчать дані цієї таблиці, етоній володіє позитивною дією та післядією.

Підсумовуючи результати застосування етонію при імунodefіциті, викликаному комбінованим впливом радіаційно-хімічних чинників у білих щурів та при зниженій природній резистентності поросят-гіпотрофіків, можна зробити висновок про загальну корегуючу дію цієї речовини. Для поглибленого вивчення причин дії етонію в умовах імунodefіциту досліджували його вплив на синтез РНК та ядерних білків клітин виличкової залози.

Проведені біохімічні дослідження на тваринах-гіпотрофіках свідчать, що активність ДНК-залежної РНК-полімерази ядер клітин тимуса поросят з ознаками антенатальної гіпотрофії нижча, ніж у контролі. Можна припустити, що низький рівень біосинтетичних процесів сприяє відставанню у рості і зниженні резистентності організмів.

На 20-й день згодовування препарату етонію спостерігається підвищення вмісту РНК-фракцій рН 7,0, які є попередниками рРНК у ядрах тимуса контрольних гіпотрофіків. Однак цей показник залишається в 1,6 рази нижчим, ніж у тварин позитивного контролю (тварини-нормотрофіки).

Важливо відмітити, що вміст РНК, екстрагованої з ядер при

Таблиця 3

Вплив етнію на стан клітинних та гуморальних факторів
резистентності нормо- та гіпотрофіків (n-10, M ± m)

Групи	Активність		
	Фагоцитарна (%)	Бактерицидна (%)	Лізосимна (%)
на 20-й день введення препарату			
Тварини-нормотрофіки (1 група)	33,1 ± 0,3	49,8 ± 1,2	52,3 ± 1,0
Тварини-гіпотрофіки (2 група)	20,0 ± 0,9*	40,1 ± 2,2*	49,1 ± 1,1*
Тварини-гіпотрофіки + етоній (3 група)	30,5 ± 0,4**	52,1 ± 1,3**	61,1 ± 1,5**
на 20-й день після припинення введення препарату			
1 група	35,9 ± 0,5	50,8 ± 1,0	49,1 ± 1,8
2 група	23,9 ± 1,7*	45,4 ± 1,1*	45,3 ± 1,1*
3 група	33,0 ± 0,6**	61,9 ± 1,6**	54,2 ± 2,7**

* - достовірність відносно 1 групи

** - достовірність 3 групи відносно 2 групи

pH 8,0. Під впливом препарату підвищується в 4,5 рази в порівнянні з контрольними гіпотрофіками ($p < 0,01$). Проте різниця між рівнем вмісту РНК цієї фракції ядер клітин тимуса дослідних тварин і тварин-нормотрофіків статистично недостовірна.

Таке підвищення вмісту ядерних РНК може бути пов'язане зі зміною активності ДНК-залежної РНК-полімерази у дослідних поросят. Так, інтенсивність включення ^{14}C -УТФ в РНК ядер тимуса дослідних гіпотрофіків в 4,2 рази менша, ніж в контролі, а радіоактивність ядерних РНК клітин залози гіпотрофіків під впливом етонію наближається до рівня цього показника у нормотрофіків (рис. 4).

Подальші дослідження з викою істанням ^{14}C -гідролізату білка показали зменшення рівня їх включення в ядерні білки тимуса поросят-гіпотрофіків в 3,6 рази в порівнянні з нормотрофіками. У тварин-гіпотрофіків, що отримували етоній, показник включення ^{14}C -гідролізату білка в ядерні білки збільшився в порівнянні з контрольними гіпотрофіками, але цей показник не наблизився до значення контрольних нормотрофіків.

Слід звернути увагу, що включення мітки в негістонові білки значно вище, ніж в гістони в усіх групах. Це свідчить про більш активний обмін негістонових білків порівняно з гістонами, що узгоджується з даними літератури (Кучеренко Н.Е., 1980). В інтенсивності обміну гістонових білків у тварин всіх груп достовірних змін не спостерігалось. В той час, як інтенсивність включень ^{14}C -гідролізату білка в негістонові білки поросят-гіпотрофіків в 3,4 рази нижча порівняно з нормотрофіками. У тварин-гіпотрофіків що отримували етоній, цей показник збільшується в 2,3 рази в порівнянні з контрольними гіпотрофіками (рис. 5).

Можливо, що у тварин-гіпотрофіків, які отримували етоній, гени менш репресовані, що зумовлюється змінами взаємодії гістонів з негістоновими білками.

Отже, підвищена функціональна активність геному тварин-гіпотрофіків, що отримували етоній, пов'язана із змінами окремих характеристик системи реалізації генетичної інформації, зокрема РНК-полімеразної активності та обміну ядерних білків.

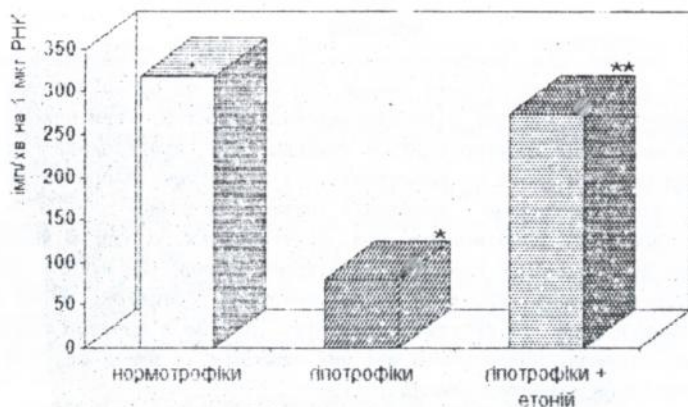


Рис. 4. Інтенсивність включень ^{14}C -УТФ в РНК ядер тимуса поросят (n=10)

* - достовірність відносно нормотрофіків

** - достовірність відносно гіпотрофіків

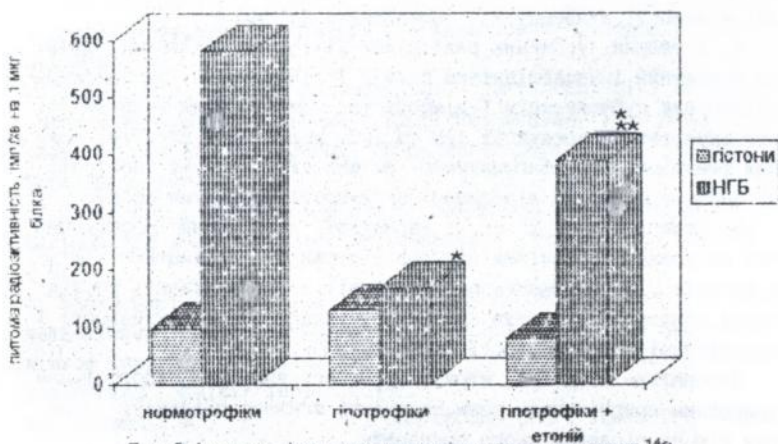


Рис. 5. Інтенсивність включення міченого попередника ^{14}C -гідролізату білка в ядерні білки клітин тимуса поросят (n=10)

* - достовірність відносно нормотрофіків

** - достовірність відносно гіпотрофіків

ВИСНОВКИ

1. Окрема дія рентгенівського опромінення (сумарна доза $5,4 \cdot 10^{-2}$ Кл*кг⁻¹) та нітрату свинцю (20 мг/кг) на організми тварин протягом 30 діб має різнонаправлений характер: при опроміненні в основному спостерігається тенденція до пригнічення показників системи крові та резистентності організму, а при інтоксикації нітратом свинцю - активація імунної системи.

2. Поєднана комбінована дія рентгенівського опромінення (сумарна доза $5,4 \cdot 10^{-2}$ Кл*кг⁻¹) та нітрату свинцю (20 мг/кг) на лабораторних щурів протягом 30 діб викликає достовірні зміни в периферичній крові та системі імунітету, які не є простою сумою змін, що отримані при окремій дії цих чинників, і мають переважно потенційний характер (Кисюк > 1).

3. Взаємодія цих двох чинників призводить до посилюючого модифікуючого впливу з боку нітрату свинцю щодо процесів, які мали місце за дії рентгенівського опромінення. Це мало своє вираження в суттєвому пригніченні еритропоезу, що призвело до гіпохромної залізодефіцитної анемії; тромбоцитопенії; омолоджуваних нейтрофільного ряду; моноцито-, лейко- та лімфопенії; збільшенні кількості лімфоцитів з аномальними ядрами.

4. У тварин, уражених радіаційно-хімічними чинниками, виявлено вторинний імунодефіцитний стан з Т-лімфопенією, дисбалансом регуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів, пригніченням В-клітинної ланки імунітету, продукції IgM та IgG, нормальних антитіл, зниження функціональної фагоцитуючої активності системи нейтрофілів, бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові.

5. Етоній в дозі 2 мг/кг проявляє позитивний корегуючий ефект на уражені організми під час і після дії радіаційно-хімічних агентів. Це виражається в тенденції до нормалізації досліджуваних показників системи крові та імунологічної реактивності і неспецифічної резистентності організмів.

Пероральне введення етонію (2 мг/кг) тваринам-гіпотрофікам з природним пригніченням резистентності показує позитивну корегуючу дію та ліслідію цього препарату.

6. Застосування етонію (2 мг/кг) в умовах імунодефіциту впливає на окремі характеристики системи реалізації генетичної інформації: зокрема підвищується вміст та інтенсивність синтезу фракцій РНК та підвищується інтенсивність синтезу ядерних білків в клітинах тимуса.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ЩО ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Павлюк І.М., Бабак С.В. Действие этония на резистентность поросят// Зоотехния. - 1993. - № 11. - С.21-22.
2. Бабак С.В. Снижение токсичности тяжёлых металлов в организме нетрадиционными методами// Вестник проблем современной медицины, Харьков, 1995. - С.33-36.
3. Бабак С.В., Павлюк І.М. Біосинтез білка і РНК в ядрах клітин тимуса поросят з антенатальною гіпотрофією// Укр. біохім. журнал. - 1996. - Т.68, № 2. - С.103-105.
4. Бабак С.В., Павлюк І.М. Застосування етонію при гіпотрофії поросят// Вчені-аграрники - сільськогосподарському виробництву./ Міжвідомчий збірник наукових робіт. - Чернівці: Прут, 1993. - С. 262-263.
5. Павлюк І.М., Бабак С.В., Колісник І.Д., Самборська О.Я. Мікроскопічна структура вилоккової залози під впливом різних факторів. - Там же - С.283-290.
6. Павлюк І.М., Бабак С.В., Чаусов Н.К., Томаш Г.Г. Морфологические показатели вилокковой железы поросят-гипотрофиков// Материалы Всероссийской научно-методической конференции по патологической анатомии с/х животных "Диагностика, патогенез, топоморфология и профилактика болезней с/х животных". Воронеж. - 1993, - С.112-113.
7. Бабак С.В. Рівень фагоцитарної, бактерицидної і лізоцимної активності поросят в різних екологічних зонах// Тези доп. Міжнародної наукової конференції "Навколишнє середовище і здоров'я", Чернівці. - 1993. - С.63.
8. Бабак С.В., Самборська О.Я., Забавська О.А. Вплив малих доз радіації на деякі фізіологічні показники тварин. - Там же - С.64.
9. Бабак С.В., Павлюк І.М., Максимюк М.Н., Самборська О.Я. Вплив четвертинних амонієвих сполук на функціональний стан кишечника і хімуса тварин// Тези доп. ХІУ з'їзду Українського фізіологічного товариства, Київ. - 1994. - С.147.
10. Павлюк І.М., Бабак С.В., Самборська О.Я., Томаш Г.Г. Фармакологічна дія амонієвих сполук на судинну систему органів тварин// Матеріали наукової конф., присвяченій 100-річчю з дня народження акад. О.І.Черкеса, Київ. - 1994. - С.62-63.
11. Бабак С.В., Павлюк І.М., Чаусов М.К. Архітектоніка тимуса і

- резистентність організму тварин при дії радіації// Тези доп. 1-го Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографо-анатомів України, Івано-Франківськ.- 1994.- С.10.
12. Бабак С.В., Самборська О.Я., Павлюк І.М. Морфо-функціональне состояние надпочечников и тимуса поросят при скармливанні додецоцием// Матеріали республіканської наукової практичної конференції по животноводству и ветеринарній медицині, Битобск.- 1994.- С.60.
13. Павлюк І.М., Бабак С.В., Самборська О.Я., Савчук-Томаш Г.Р., Масляно Т.Р. Рівень показників неспецифічної резистентності тварин// Міжвідомчий науковий збірник "Проблеми агропромислового виробництва", Чернівці: Прут.- 1994.- Бил.3.- С.292-294.
14. Бабак С.В., Самборська О.Я. Дисбаланс показників неспецифічної резистентності при дії опромінення на організм тварин// Тези доп. Міжнародної молодіжної науково-практичної конференції "Молодь і проблеми конфлікту в період переходу до демократичного суспільства", Чернівці.- 1994.- С.91.
15. Павлюк І.М., Бабак С.В., Самборська О.Я. Вплив екологічних факторів на фізіологічні процеси організму// Матеріали Міжнародного симпозиума "Медико-екологічні проблеми охорони здоров'я в Україні", Чернівці.- 1994.- С.44.
16. Babak S., Pavlyuk I., Samborskaya H. Decrease of Radiation Toxic Effect on Thymus Cytostructure// ESACT/JAECT Meeting Congress the Animal Cell Technology "Developments towards the 21st Century", Netherlands.- 1995.- P.8.
17. Бабак С.В., Самборська О.Я. Резистентність тварин при опроміненні// Матеріали наукової конференції викладачів, співробітників, студентів, присвяченої 120-річчю заснування Чернівецького університету, Чернівці.- 1995.- Т.3.- С.3.

Бабак С.В. "Корректирующее действие этония в условиях экспериментальной и естественной моделей иммунодефицита".

Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (специальность 03.00.04 - Биохимия). Черновицкий государственный университет им.Ю.Федьковича, Черновцы, 1997.

Совместное комбинированное взаимодействие рентгеновского облучения (суммарная доза - $5,4 \times 10^{-2}$ Кл*кг⁻¹) и нитрата свинца (20 мг/кг) на протяжении 30 дней на организмы белых крыс вызыва-

ет иммунодефицит и имеет потенциальный характер.

Поросята-гипотрофики характеризуются естественным угнетением резистентности организмов.

Этоний в дозе 2 мг/кг проявлял положительный корректирующий эффект в условиях экспериментальной (радиационно-химической) и естественной (животные-гипотрофики) моделей иммунодефицита. Это выразилось в тенденции к нормализации показателей системы крови, иммунологической реактивности и неспецифической резистентности, а также в активации синтеза РНК и обмена ядерных белков тимуса.

Babak S.V. "Ethonium correcting influence under conditions of experimental and natural immune deficiency models".

Manuscript.

The dissertation work for the degree of candidate of biological sciences (speciality: 03.00.04 - Biochemistry). Chernivtsi State University, Chernivtsi, 1997.

Combined for 30 days' interaction of x-ray irradiation (summary dosage - $5,4 \times 10^{-2}$ Kl*kg⁻¹) and Pb nitrate (20 mg/kg) causes immune deficiency in white rats' organisms and bears potential character.

Hypotrophic pigs are characterized by natural organism resistibility oppression.

Ethonium in dosage 2 mg/kg reveals positive correcting effect under conditions of experimental (radiational-chemical) and natural (hypotrophic animals) model of immune deficiency. It's expressed through the tendency of blood system data normalization, immunologic reactivity and non-specific resistibility, in RNA synthesis activation in thymus cellule nuclear albumin exchange.

Ключові слова: етоній, імунітет, гістони, негістонові білки, РНК, кров, тимус.



Подписано к печати 20.05.97. Формат 60/84. Физ. печ. л. 1,5.

Усл. печ. л. 1,39. Уч. изд. л. 1,09. Зак. 275. Тир. 100

Черновицкое областное управление статистики

274018. Черновцы, Головна, 2-49-а

AB 38.173