

Міністерство охорони здоров'я України
Український науковий центр медичної генетики
МОЗ та НАН України
Дуганський державний медичний університет
Харківський НДІ мікробіології
і імунології ім. І. І. Мечникова
Міжнародний Мечниковський фонд

ПРОБЛЕМИ ЕКОЛОГІЧНОЇ ТА МЕДИЧНОЇ ГЕНЕТИКИ І КЛІНІЧНОЇ ІМУНОЛОГІЇ

Збірник наукових праць
Випуск 2 (41)

Київ - Дуганськ – Харків
2002

Biorhys. Acta. - 1999. - 1411. - 2-3. - P.351-369.

13. Michiels C., Raes M., Toussain O., Remacle J. Importance of *S-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress* // *Free Radical Biology & Medicine.* - 1994. - V.17, N3. - P.235-248.

14. Moncada S., Palmer R., Higgs E. *Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology* // *Pharmacol. Rev.* - 1991. - 43. - P.109-142.

15. Nathan C., Xie Q. *Regulation of biosynthesis of nitric oxide* // *J. Biol. Chem.* - 1994. - 269. - P.13725-13728.

УДК 577.1:57.083.3:573.4:615.849.5

ІМУНОМОДУЛЮЮЧИЙ ВПЛИВ N-СТЕАРОІЛЕТАНОЛАМІНУ В ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

Н.Л. Кіндрюк, М.В. Артамонов, Н.М. Гула, А.А. Чумак

Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН України

Науковий центр радіаційної медицини АМН України

N-ацилгетаноламіни (NAE) – група біологічно активних речовин, відомих насамперед такими сполуками, як N-арахідоноілгетаноламін, названий анандамідом, (Devane et al., 1992) та 2-арахідоноілгліцерол (Lee et al., 1995; Mechoulam et al., 1995; Sugiura et al., 1995) котрі були ідентифіковані як ендогенні ліганди канабіноїдних рецепторів. NAE відіграють суттєву роль в підтримці фізіологічного гомеостазу і в розвитку деяких розладів нервової та імунної систем. Зокрема відомо, що анандамід гальмує функціональну активність макрофагів і макрофагоподібних клітин мікроглії щурів (Sarisle et al., 2002), ендогенні ліганди канабіноїдних рецепторів блокують міграцію нейтрофілів у черевну порожнину мишей у відповідь на запальні стимули (Smith et al., 2001). Показано роль канабіноїдних рецепторів у розвитку природного перебігу захворювання, викликаного вірусом імунodefіциту котів (Ropі et al., 2001). Відомі дані суперечливі дані про взаємодію канабіноїдів з мережею цитокінів (Klein et al., 2000). Канабіноїди здатні проявляти імномодулюючий ефект шляхом модуляції експресії матричної РНК для СВ1 рецепторів, причому цей ефект залежить від природи використаного стимулу (Nee et al. 2001; pong et al. 2001). Результати наукових публікацій свідчать про те, що ліганди канабіноїдних рецепторів мають різні протизапальні властивості, які проявляються за різними механізмами.

Однак відомо, що анандамід синтезується в суміші іншими NAE і складає більшу частину відсотку сумарної кількості. Основна маса N-ацилгетаноламідів представлена сполуками похідними насичених жирних кислот. Про їх вплив на імунні процеси майже нічого не відомо.

Метою даної роботи було вивчення впливу одного з представників NAE - N-стероїлетаноламідну на деякі імунологічні характеристики щурів, що завдали гострого загального опромінення в дозі 2 гр. 1

Матеріали і методи

У досліді були використані щури лінії Вістар масою 180-250 г, віком 4 місяці. Перша група складалася з 7 інтактних тварин, Другу групу склали 10 щурів, які знали опромінення. Третя група складалася з 10 опромінених щурів, яким щоденно вводили N-стероїлетаноламід протягом 10 днів до опромінення. В четвертій групі, до якої входило 8 тварин, N-стероїлетаноламід вводили щоденно протягом 14 днів після опромінення. В п'ятій групі, що складалася з 5 інтактних щурів, N-стероїлетаноламід вводили протягом тих же 14 днів, що і в четвертій групі.

Водну суспензію N-стероїлетаноламідну вводили перорально в обсязі 0,5 мл з розрахунку 5 мг на 100 г маси щура. Інтактним тваринам, та щурам другої групи вводили по 0,5 мл води.

Опромінення щурів другої, третьої та четвертої груп дозою в 2 Гр проводилось на установці РУМ-17 за таких умов: напруга - 180 кВ, сила струму - 10 мА, фільтри Сп 0,5 мм. + Al 1,0 мм., потужність дози - 46,5 Р/хв. Відстань до поверхні шкіри тварин - 40 см.

Щурів забивали декапітацією, визначали відносний вміст в зібраній крові нейтрофілів та лімфоцитів визначали шляхом підрахунку 300 клітин в мазках, забарвлених по Романовському-Гімзе. В сироватці крові визначали вміст

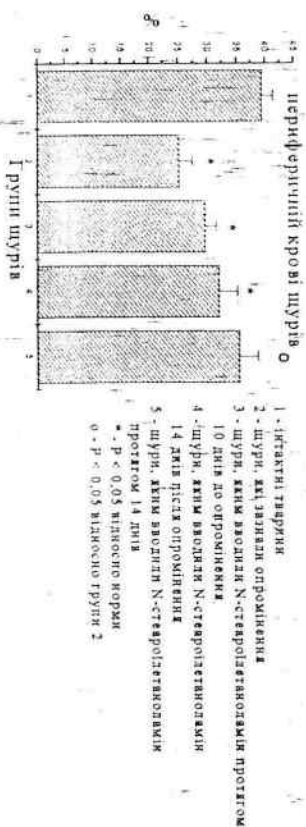
Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

циркулюючих імунних комплексів різного ступеню дисперсності шляхом осадження в розчинах політеліт-ліклоно-6000 4,16 % для крупнодисперсних і 7 % для дрібнодисперсних імунних комплексів (Sittes, Tert 1991). Масу тимусу визначали шляхом зважування на торзійних вагах. Статистична обробка отриманих результатів виконана з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою пакету прикладних програм Microsoft Excel, версія 5.

Результати та обговорення

Опромінення викликало суттєві зміни в периферичній крові. Кількість нейтрофілів гранулоцитів на 14-й день після опромінення була достовірно нижчою в 2-й, 3-й, та 4-й групах щурів (рис. 1), що обумовлено високою радіочутливістю молодих клітин гранулоцитарного ряду і відносно коротким їх періодом життя. В групах щурів, які отримували N-стероїлетаноламід, проглядалась тенденція до менш вираженої гранулоцитопенії, хоч статистичної вірогідності ці показники не досягли.

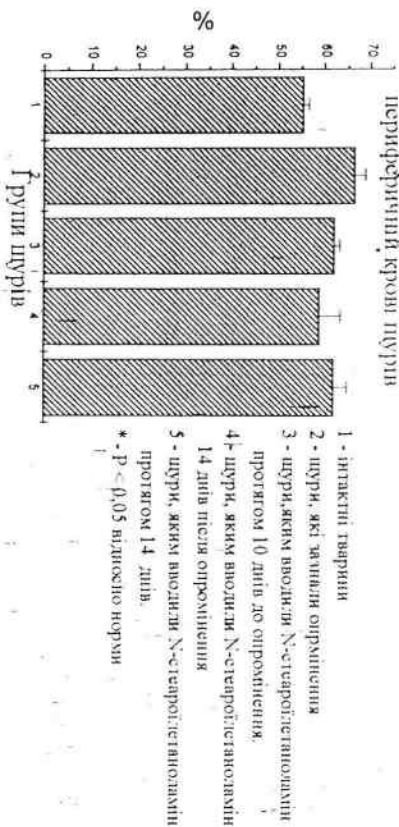
Рис. 1 Відносна кількість нейтрофілів у



Цілом логічно, що в другій, контрольній по опроміненню групі та у щурів третьої групи, які за 10 днів до опромінення щоденно отримували N-стероїлетаноламід, мав на фоні нейтропенії місце відносний лімфоцитоз (рис. 2).

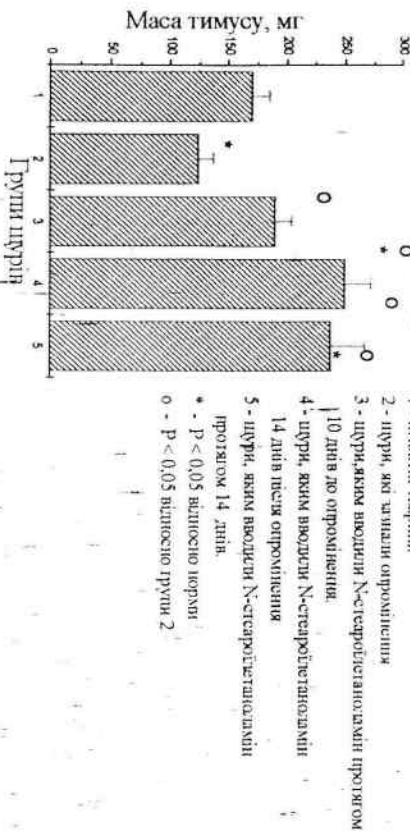
Сучасні проблеми експериментальної біології

Рис. 2 Відносна кількість лімфоцитів у периферичній крові щурів



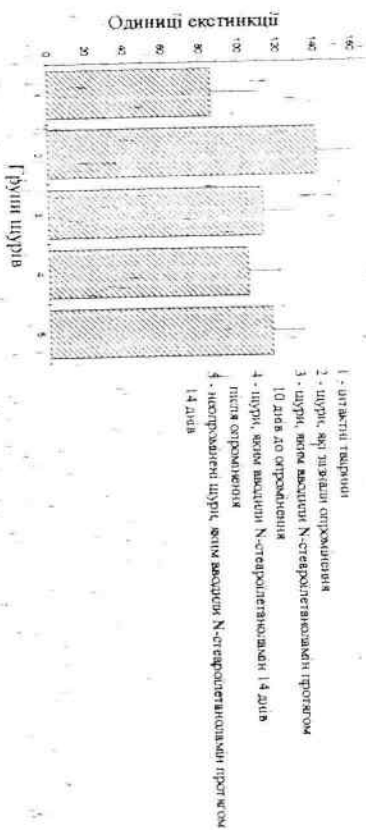
Опромінення викликало істотне зменшення маси тимусу у щурів 2-ї групи. Введення N-стероїдтанолоаміну протягом 10 днів до опромінення запобігало втраті маси тимусу. Якщо N-стероїдтанолоамін вводили 14 днів після опромінення, спостерігалась навіть наростання маси тимусу, порівняно з інтактними тваринами (рис. 3.)

Рис. 3 Маса тимусу щурів



Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Рис. 4 Вміст циркулюючих імунних комплексів при конденсації полістиренгіколо 4,16%



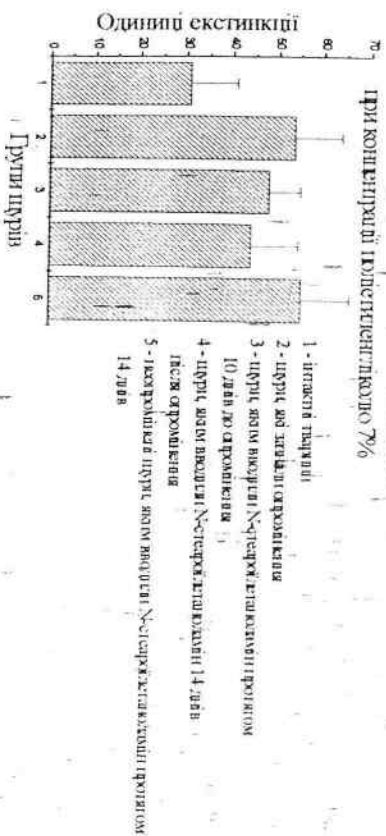
При вивченні вмісту циркулюючих крупнодисперсних імунних комплексів у сироватці периферичної крові підослідних щурів ми виявили, що опромінення викликало зростання їх концентрації у тварин 2-ї групи (рис. 4). Імунні комплекси великої дисперсності утворюються переважно імунгلوبулінами класу IgM, функціональними властивостями яких є розвиток первинної імунної відповіді. Опромінення збільшує антигенне навантаження як за рахунок аутоантигенів, що утворюються при розпаді клітин, так і внаслідок порушення бар'єрних механізмів і створення сприятливих умов для розмноження інфекційної флори з розвитком відповідних гуморальних реакцій імунної системи. N-стероїдтанолоамін суттєво зменшував рівні циркулюючих крупнодисперсних імунних комплексів у опромінених тварин, можливо, за рахунок протизапальної дії (Smith et al., 2001), хоча в інтактних щурів 5-ї групи, які отримували препарат протягом 14 днів, проглядалась тенденція до зростання цього показника.

Подібна тенденція, проте менш виражена, була виявлена і при визначенні дрібнодисперсних циркулюючих імунних ком-

Сучасні проблеми експериментальної біології

плексів, в утворенні яких переважна роль належить імунoglobulinaм класу IgG (рис. 5).

Рис. 5 Вміст циркулюючих імунних комплексів



Таким чином, введення N-стероїдгексаміліну опроміненним щурам запобігало втраті маси тимусу, і зменшувало можливість формування циркулюючих імунних комплексів, переважно крупнодисперсних.

Л і т е р а т у р а

1. Carlisle S.J., Marciano-Cabral F., Stabb A., Ludwig C., Cabral G.A. Differential expression of the CB2 cannabinoid receptor by rodent macrophages and macrophage-like cells in relation to cell activation // *Int. Immunopharmacol.* - 2002. - V. 2. № 1. - P. 69-82.
2. Klein T.W., Lane V., Newton C.A., Friedman H. The cannabinoid system and cytokine network // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* - 2000. - V. 225. № 1. - P. 1-8.
3. Lee M., Yang K.H., Kaminski N.E., Effects of pitavite cannabinoïd receptor ligands, anandamide and 2-arachidonyl-glycerol, on immune function in B6C3F1 mouse splenocytes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1995. - V. 275. P. 529-536.
4. Mechoulam, R., Ven-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N.E., Schatz, A.R., Gorzhev, A., Almog, S., Martin, B.R., Compton, D.R., Pertwee, R.G., Griffin, G., Bayewitch, M., Barg, J., Vogel, Z., Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors // *Biochem. Pharmacol.* - 1995. - V. 50. - P. 83-90.
5. Nae S.N., Newton C., Widen R., Friedman H., Klein T.W. Modulation of CB1 mRNA upon activation of murine splenocytes // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 2001. - V. 493. - P. 215-221.
6. Nong L., Newton C., Friedman H., Klein T.W. CB1 and CB2 receptor m RNA expression in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from various donor types // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 2001. - V. 493. - P. 229-233.
7. Ronti W., Rubinio T., Bardotti M., Poli G., Parolaro D. Cannabinoids inhibit nitric oxide production in bone marrow derived feline macrophages // *Vel. Immunol. Immunopharmacol.* - 2001. - V. 82. № 3-4. P. 203-214.
8. Smith S.R., Denhardt G., Terminelli C. The anti-inflammatory activities of cannabinoid receptor ligands in mouse peritonitis models // *Eur. J. Pharmacol.* 2001. - V. 432. № 1. - P. 107-119.
9. Slites D.P., Terr A.I. Basic and Clinical Immunology. - Tokyo: Prentice Hall of Japan, 1991. - 870 p.
10. Sugiyama T., Kondo S., Sakagawa A., Nakane S., Shinoda A., Itoh K., Yamashita A., Waki K. 2-Arachidonylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995. - V. 215. - P. 89-97.