

Таблиця 4

Вміст вторинних продуктів ПОЛ дієнів та кетодієнів в ізопропанольних екстрактах мозку та серця щурів різних груп

Екстракти:	Контроль	Стрес	Адаптація	Трифлазін	Галаскор-бін
Мозок, A232/т	182	184	172	164	112
Мозок, A278/т	50	54	53	46	39
Серце, A232/A220	64	118	109	113	66
Серце, A278/A220	20	42	39	42	24

Таблиця 5

Антиоксиданта активність хлороформних екстрактів еритроцитів та наднирників, ($-A517 \times 1000$)/т, од. погл./г.

Тканини	Контроль	Стрес	Адаптація	Трифлазін	Галаскор-бін
Еритроцити	119	35	182	49	92
Наднирники	153	179	92	196	110

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ПРЕПАРАТІВ НА УНІВЕРСАЛЬНІ СИГНАЛЬНІ СИСТЕМИ КЛІТИНИ

Петренко В.І., Срібний С. М. ✓

Український Державний медичний університет

Нині можна вважати доведеним, що у клітині існує дві основні системи трансмембранної сигналізації: аденілатциклазна і Са-поліфосфоїнозитна (Taylog S. at al., 1986). У аденілатциклазній системі (СІ) сигнали з рецепторів передаються на G-білки (активууючі — на G_s , гальмівні — на G_i), а потім — на аденілатциклазу. Завдяки збалансованій дії аденілатциклази (АдЦ) і фосфодіестерази циклічного аденозин-монфосфату (цАМФ) у клітині підтримується певний його рівень, який визначає активність протеїнкінази А, що виконує роль регуляторного механізму.

Са-поліфосфоїнозитна система (СІІ) має складнішу структуру. Активууючі сигнали з рецепторів надходять на білки, що зв'язують гуанозинтрофосфат (G_p , G_o), а потім на фосфоліпазу С котра розщеплює фосфатидилінозитдифосфат на диацилглицерин (ДАГ) і інозинтрифосфат (IP_3). При цьому ДАГ безпосередньо активує протеїнкіназу С, а IP_3 — опосередковано (через мобілізацію Са із клітинних депо) — кальмодулінзалежні протеїнкінази, крім того, кооперативно з ДАГ, впливаючи на активність протеїнкінази С.

Важливим компонентом СІІ є каскад арагіднової кислоти, що утворюється з ДАГ під впливом ДАГ-ліпази, а також з фосфоліпідів за допомогою фосфоліпази A_2 . Є також експериментальні факти, що свідчать про зв'язок тирозинкіназної системи з компонентами СІІ (Tauber J. P. at al., 1988), модуляцію ключових елементів СІ і СІІ стероїдними гормонами (Сергеев П. В. та ін., 1988), зв'язок нікотинових холінергічних рецепторів з СІІ (6), участь СІ—СІІ у регуляції процесів проліферації і диференціювання клітин (Lockwood A. H. at al., 1983).

Таким чином, ні в якому разі не ігноруючи наявності інших трансдукторних систем, можна стверджувати, що системи, котрі можна віднести до СІ і СІІ прямо, або опосередковано контролюють більшість клітинних процесів і функцій. При цьому вплив фармакологічно активних речовин на ці сигнальні системи слід оцінювати як їх активацію, або гальмування, що надалі позначатиметься як +I, -I, +II і -II відповідно. Оскільки СІ і СІІ зв'язані між собою внутрішніми і зовнішніми (відносно клітини) функціональними зв'язками, що забезпечують у більшості випадків їх реципрокно взаємодію, то активація СІ (+I) супроводжується пригніченням СІІ (-II), а дія -I типу еквівалентна +II (Луйк А. И. та ін. 1990).

Проведені дослідження були спрямовані на поглиблення існуючих уявлень і отримання принципово нових даних про механізм дії протитуберкульозних препаратів. Вивчення молекулярних механізмів дії на рівні сигнальних систем клітини іонізаиду, ріфампіцину та стрептоміцину, завдяки їх широкому застосуванню у фтизіатричній практиці і необхідності тривалих строків влікування хворих на туберкульоз набуває у цьому плані не тільки теоретичного, але й практичного значення.

Робота виконувалася переважно на клітинних моделях, що інтегрально відбувають функції біорегуляторних систем. Агрегація тромбоцитів, окремі види активності імуннокомпетентних клітин, рухливість поліморфноядерних лейкоцитів якраз і є такими показниками, що однозначно характеризують баланс активності СІ і СІІ. При зміщенні вказаного балансу в бік переважання активності СІІ спостерігається підсилення перелічених реакцій і навпаки. Що стосується використання в експерименті концентрацій протитуберкульозних препаратів, то вони цілком адекватні з точки зору можливості реалізації їх ефектів у цілісному організмі (Пилипчук Н. С. та ін., 1988).

Агрегацію тромбоцитів вивчали на клітинах, виділених з крові кролів (Gazepav J. P. at al., 1983). Отримували плазму, збагачену тромбоцитами, з концентрацією клітин у межах $(1.2-1.5) \cdot 10^5$ кл/см³, що відповідала оптичній щільності 0.45—0.60 при довжині хвилі 590 нм. За таких умов оптична щільність суспензії лінійно знижується по мірі зменшення концентрації клітин. Результати відображували у вигляді швидкості зміни оптичної

щільності (у тисячних долях одиниць оптичної щільності за 1 хв.).

Для дослідження розеткоутворення Т-лімфоцитів миші з баранячими еритроцитами до 0.05 см^3 суспензії з концентрацією лімфоцитів $4 \cdot 10^6$ кл/см³ додавали 0.01 см^3 розчину досліджуваного препарату, а через 40 хв. інкубації при кімнатній температурі — 0.05 см^3 відмитих нативних баранячих еритроцитів у співвідношенні лімфоцит : еритроцит = 1 : 30. На другий день утворені розетки фіксували глютаральдегідом, із суспензії готували мазки, забарвлювали за Романовським-Гімзою і підраховували частку клітин, що утворили розетки, не менш як на 100 лімфоцитів. Клітиною, що утворила розетку, вважали лімфоцит, до поверхні якого було прикріплено три і більше еритроцити (Закс А. С. та ін., 1986).

Для оцінки міграційних властивостей поліморфноядерних лейкоцитів (ПМЯЛ) було використано тест-систему Boyden. Методика ґрунтується на здатності ПМЯЛ проходити крізь пори ацетацелюлозних фільтрів (діаметр пор — 2.5—5.0 мкм) у напрямі градієнту концентрації тестованих речовин (Boyden S. at al., 1962).

Для вивчення впливу сполук на стимульовану рухливість лейкоцитів пацюків (хемотаксис) використовували стандартний хемотрактант формил-метионін-лейцил-феніламін (FMLP) у концентрації $1 \cdot 10^{-7}$ моль/м³. Оцінку результату проводили шляхом підрахунку під мікроскопом у 10 полях зору кількості клітин, що повністю пройшли крізь мембранний фільтр.

впливає. Слід зауважити, що, хоча дана модель в цілому позитивно пов'язана з Са-мобілізуючим каскадом обміну поліфосфоінозитів, значною мірою вона залежить від рівня синтезу тромбоксану.

Усі три препарати у високих концентраціях пригнічують Т-лімфоцитарне розеткоутворення, а у малих виявляють тенденцію до його стимуляції. Приведені в таблиці дані свідчать про відсутність впливу на хемотаксис і хемокінез з боку ізоніазиду. Стрептоміцин виявляє тенденцію до пригнічення цієї клітинної реакції, але результати щодо обох цих препаратів не є вірогідними. А ось рифампіцин виявився активним ігібітором стимульованої та спонтанної рухливості ПМЯЛ.

Отримані результати дозволяють зробити певні зауваження щодо корекції схем лікування туберкульозу. Перш за все, необхідно враховувати, що при туберкульозі легень відбувається зсув динамічного балансу СІ і СІІ у бік другої системи. Про це свідчить зниження вмісту цАМФ у плазмі крові хворих приблизно на 20% порівняно з нормою. У той же час спостерігається підвищення рівнів продуктів активації СІІ (простацикліну та лейкотриєнів усіх видів). Особливо звертає на себе увагу підвищення рівню ТхВ₂ (більш, як удвічі порівняно з нормою) у хворих на дисемінований та фіброзно-кавернозний туберкульоз. Рівень же циклічного гуанозинмонофосфату — негативного вторинного посередника СІІ — підвищується незначною мірою, та й то лише при фіброзно-кавернозній формі захворювання (Сокол Т. В., 1990).

Таблиця 1.

Вплив протитуберкульозних препаратів на агрегацію тромбоцитів, розеткоутворення Т-лімфоцитів, хемотаксис і хемокінез, $M \pm m$

Речовина	Концентрація моль/дм ³	Агрегація тромбоцитів		Кількість лімфоцитів, що утворили розетки		Хемокінез		Хемотаксис	
		в абсолютних величинах	в % до контролю	в абсолютних величинах	в % до контролю	кількість клітин, що проникли крізь пори фільтру	в % до контролю	кількість клітин, що проникли крізь пори фільтру	в % до контролю
Контроль	—	10.1 ± 0.4	—	32.0 ± 0.4	—	12.0 ± 1.1	—	30.0 ± 2.0	—
Ізоніазид	1 · 10 ⁻⁴	8.8 ± 0.2	-14	24.5 ± 1.1*	-17	13.1 ± 0.3	+ 9	31.4 ± 2.3	+ 5
	1 · 10 ⁻⁵	10.0 ± 0.4	- 2	26.5 ± 1.0*	-17	8.0 ± 1.7	-33	23.4 ± 3.8	-22
Стрептоміцин	1 · 10 ⁻⁴	9.1 ± 0.4	-11	36.0 ± 2.0	+13	11.4 ± 1.7	- 5	30.0 ± 3.3	0
	1 · 10 ⁻⁵	13.2 ± 0.4*	+29	28.5 ± 2.0	-11	13.8 ± 3.3	+15	26.7 ± 2.7	-11
	1 · 10 ⁻⁶	13.0 ± 0.4*	+27	36.0 ± 2.5	+13	14.5 ± 2.0	+21	25.4 ± 3.2	-25
Рифампіцин	1 · 10 ⁻⁴	13.1 ± 0.5*	+28	34.0 ± 1.0	+ 6	15.1 ± 3.3	+26	26.7 ± 2.7	-11
	1 · 10 ⁻⁵	5.5 ± 0.2*	-47	24.0 ± 4.0	+25	1.9 ± 0.4	-84	2.9 ± 1.1	- 9
	1 · 10 ⁻⁶	12.7 ± 0.4*	+25	32.0 ± 1.0	0	5.8 ± 2.3*	-56	5.4 ± 2.1*	-82
	1 · 10 ⁻⁶	13.0 ± 0.4*	+27	36.0 ± 3.0	+13	9.0 ± 1.1*	-25	6.8 ± 1.8*	-78

Примітка: * — значення вірогідно ($P < 0.05$) відрізняється від контрольного.

Як видно з представлених у таблиці даних, рифампіцину притаманна властивість пригнічувати у максимальній для цієї моделі концентрації агрегацію тромбоцитів, проте у мінімальних концентраціях цей препарат навіть дещо активує її. Це саме стосується і стрептоміцину у всіх розведеннях. Ізоніазин же на агрегацію тромбоцитів практично не

У цьому плані корисною постає властивість рифампіцину, що є, як показав експеримент, блокаторм СІІ і активатором СІ, особливо, враховуючи значне підвищення рівню ТхВ₂, котрий визначає активність реакції агрегації тромбоцитів.

З іншого боку, призначення протизапальних засобів, більшість з яких, подібно до ри-

фампіцину, є речовинами +I/—II типу, слід збалансовувати засобами протилежної дії, навіть за умови переважання СІІ. Одним з таких препаратів можна вважати ізоніазид. Цей препарат не справляв істотного впливу на клітинні реакції, проте встановлено, що ізоніазид блокує ω-окислення лейкотриєнів, стаючи на перешкоді їх інактивації, що сприяє нагромадженню продуктів функціонування СІІ (Partbe S. et al., 1990).

ВИСНОВКИ

1. Протитуберкульозні препарати поєднують специфічну активність з комплексним впливом на універсальні сигнальні системи клітини.

2. Рифампіцин, та, меншою мірою, стрептоміцин виявляють властивості речовини типу +I/—II, ізоніазид — типу —I/+II, а стрептоміцин у даному відношенні індивідуальний.

3. Схеми лікування туберкульозу легень повинні передбачати збалансованість дій як протитуберкульозних препаратів, так і засобів патогенетичної терапії у плані їх дії на сигнальні системи клітини з урахуванням стану останніх при тій, чи іншій клінічній формі захворювання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Закс А. С., Быкова А. А., Ючинова Т. А. Экспресс-микрометод определения количества Т- и В-лим-

фоцитов в крови человека. // Лаб. дело. — 1986. — № 4, с. 242—243.

2. Луйк А. И., Кухарь В. П., Радченко И. В. и др. Стереотипный механизм действия ксенобиотиков. // Доклады АН УССР. — 1990. — № 8, с. 67—70.

3. Пилипчук Н. С., Петренко В. И., Процюк Р. Г. Методика лечения больных туберкулезом легких, осложненным хроническим легочным сердцем, с учетом фармакокинетики противотуберкулезных препаратов. // Проблемы туберкулеза. — 1988. — № 12, с. 16—21.

4. Сергеев П. В., Духанин А. С. Механизмы преобразования гормонального сигнала стероидов в биологический ответ клетки-мишени. // Фармакология и токсикология. — 1988. — т. 51. — с. 4—12.

5. Сокол Т. В. О влиянии туберкулезной инфекции на активность плазменных простагландинов и циклических нуклеотидов. // I Всесоюзный конгресс по болезням органов дыхания. — 1990. — с. 74.

6. Obdti-Latif A. A. Calcium-mobilizing receptors, polyphospho-inositides and the generation of second messengers. // Pharm. Rev. — 1986. — v. 38. — p. 227—272.

7. Boyden S. The chemotactic effects of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. // P. Exp. Med. — 1962. — V. 115. — P. 453—466.

8. Gazeuve J.-P., Hemmendinger S., Beretz A. et al. L'agregation plaquettaire: outil d'investigation clinique et d'etude pharmacologique. // Ann. Biol. Clin. — 1983. — V. 41. — P. 167—179.

9. Lockwood A. H., Murphy S. K., Borislow S. et al. Cellular signal transduction and the reversal of malignancy. // J. Cell. Biochem. — 1983. — v. 33. — p. 237—255.

10. Parthe S., Hagmann W. Inhibition of leucotriene ω-oxidation by isonicotinic acid hydrazide (isoniazid). // Eur. J. Biochem. — 1990. — V. 187. — № 1. — p. 119—124.

11. Tauber J. P., Tauber M. T. Growth factors: general review. // Nucl. Med. Biol. — 1988. — v. 14. — p. 407—419.

12. Taylor C., Merrytt J. Receptor coupling to polyphosphoinositol turnover: a parallel with the adenylate cyclase system. // Trends Biochem. Sci. — 1986. — V. 11. — P. 238—242.

РОЗДІЛ II ✓

ВНУТРІШНІ ХВОРОБИ.

ФАРМАКОТЕРАПІЯ

КОМПЛЕКСНЕ ЗАСТОСУВАННЯ ПІРОГЕНАЛУ В ЛІКУВАННІ РОЗСІЯНОГО СКЛЕРОЗУ (РС)

М. В. Небожина

Український Державний медичний університет

Розсіяний склероз являє собою демієлінізуюче захворювання нервової системи, етіологія та патогенез якого остаточно ще не розкриті. Існує припущення, що захворювання викликається персистою, повільно перебігаючою інфекцією в умовах порушення клітинного та гуморального імунітету.

Однією із властивостей імуностимуляторів, зумовлюючих їх використання для лікування РС, є здатність індукувати вироблення інтерферону, який сприяє розвитку резистентності до вірусів.

Крім того, інтерферон підвищує активність кіллерів та системи антитілозалежної клітинної цитотоксичності [Кузнецов В. П., Авдеев Т. И. 1985] макрофагів та макрофагоподібних трансформованих клітинних ліній [Вахрамеев Н. С., та ін. 1988], стимулює або гальмує, в залежності від дози, вироблення антигенів [W. Barun, H. B. Levy, 1972].

Дослідження змін в імунітеті при РС виявили порушення продукції інтерферону імунітетами, зниження його рівня в плазмі крові [Г. А. Акимов та ін. 1983], зменшення активуючого впливу на кіллери та систему антитілозалежної клітинної цитотоксичності [М. Вепозук та ін. 1980]. В залежності від фази перебігу РС було зареєстровано помітне зниження показників фагоцитозу поліморфноядрових нейтрофілів, дефіцит функціональної активності макрофагів, особливо у випадках рецидиву та прогресування захворювання [А. Г. Бакиров, В. П. Грекова 1983], а також зміни кількості та складу Т-лімфоцитів [А. А. Мухтарова, Л. И. Соколова, 1983].

Альтернативним варіантом терапії РС екзогенним інтерфероном [R. L. Knobler, 1988] є стимулювання продукції ендогенного інтерферону у нейронах головного та спинного мозку інтерферонгенами.

В літературі є повідомлення про те, що позитивний лікувальний ефект дають вакцини, лізати бактерій, полісахариди та ліпополісахариди бактеріального походження — ацетоксан, продигіозан, зимозан [Г. П. Єніня та ін., 1983].

Ми використовували як імуностимулюючий терапевтичний засіб пірогенал — ліпополісахарид, що утворюється внаслідок життєдіяльності *Pseudomonas aeruginosa* та ін.

Фармакологічно дією пірогеналу є підвищення неспецифічної резистентності орга-