

Склад ліпідної матриці мембран лімфоцитів після дії G_1 - і G_2 -лімфоцитарних кейлонів за умов використання екзогенного лімфоцитарного кейлону під час імунної відповіді

К. Г. Гаркава

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця
252057, Київ 57, просп. Черемоги, 34

Вивчали чутливість ліпідного комплексу мембран лімфоцитів, які отримували із селезінки мишей у різні строки імунної відповіді за умов використання екзогенного лімфоцитарного кейлону, до кейлонів, що мали фазову клітинну специфічність. Встановлено, що дія G_1 - і G_2 -лімфоцитарних кейлонів на ліпідну матрицю мембран лімфоцитів була неоднозначною і залежала від рівня продукції ендогенного кейлону та фаз імунної відповіді. Фазова специфічність лімфоцитарних кейлонів створює сприятливі умови для використання їх при імунологічних порушеннях в організмі.

Вступ. Імунологічна реакція організму реалізується завдяки кооперативній взаємодії імунокомпетентних клітин [1]. Ця взаємодія відбувається в основному на клітинних мембранах, стан яких залежить від фізико-хімічних властивостей ліпідного комплексу, що є свого роду матриксом для ферментативних комплексів білків мембран та їхніх рецепторів [2]. Взаємодія ліпід-ліпідів та білок-ліпідів зумовлює структурну організацію клітинних мембран [3].

На різних фазах імунної відповіді — індуктивній, проліферативній та продуктивній у лімфоцитах відбуваються суттєві зміни ліпідної матриці, структури та стану рецепторів і метаболізму взагалі. Так, відомо, що мембрани клітин, які трансформуються, мають підвищену кількість ліпідів. Це робить їх менш ригідними порівняно з клітинами, які активно функціонують. Результатом активації лімфоцитів мітогенами є зростання рівня поліненасичених жирних кислот і зниження кількості насичених кислот [4]. В залежності від своєї функціональної активності клітини імунної системи знаходяться на різних стадіях мітотичного циклу.

Процес розмноження лімфоцитів є важливим

етапом для імунологічної реакції організму, тому вивчення впливу на цей процес кейлонів — тканинспецифічних інгібіторів клітинної проліферації [5] є актуальним. Кейлони в залежності від своєї дії на різні фази клітинного циклу є G_1 - (пресинтетична) і G_2 - (премітотична) кейлонами. Фазова специфічність останніх дозволить використовувати їх у певні фази клітинного циклу, що створює сприятливі умови при імунотерапії та імунокорекції патологічних станів організму.

Ліпіди відіграють суттєву роль у структурній організації і функціональній активності ДНК. Синтез ДНК корелює з антиокислювальною активністю ліпідів і супроводжується структурними перебудовами у ліпідному і білковому компонентах мембран [6]. Тому метою наших досліджень стало вивчення складу ліпідного комплексу мембран лімфоцитів після дії G_1 - і G_2 -лімфоцитарних кейлонів за умов використання екзогенного лімфоцитарного кейлону під час імунної відповіді.

Матеріали і методи. Досліди здійснено на 50 безпородних мишах. Методом спиртового фракціону з лімфоцитів селезінки щурів (7 голів) одержували кейлон [7], який вводили одноразово у дозі 10 мкг/г з антигеном — еритроцитами барана. Для оцінки чутливості ліпідного комплексу мембран

лімфоцитів під час імунної відповіді за умов використання екзогенного лімфоцитарного кейлону застосовували кейлони, які мають фазову специфічність по відношенню до клітинного циклу. Це G₁- і G₂-кейлони, які були отримані нами раніше [8] з тимочитів свиней. Їх розчиняли у фізіологічних розчинах і в дозі 0,7 мг/мл обробляли лімфоцити дослідних груп (10·10⁶ клітин). Лімфоцити контрольних груп кейлонами не обробляли. Лімфоцити одержували із селезінки мишей на першу, третю та п'яту добу дослідження. Ендогенний кейлон отримували із селезінки мишей у ці ж строки.

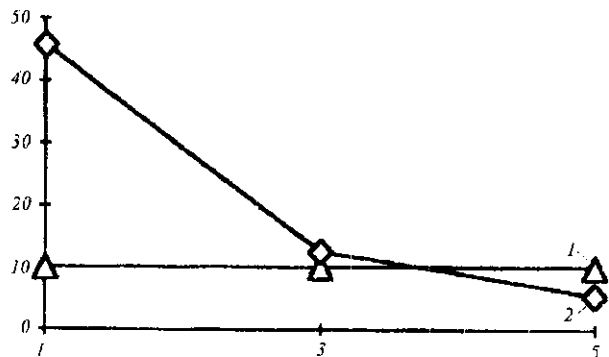
Спектр жирних кислот фосфоліпідів і рівень вільного холестерину з однієї біологічної проби визначали на газовому хроматографі серії «Цвет-500» з полум'яно-іонізаційним детектором у ізотермічному режимі [9].

Для статистичної обробки результатів використовували пакет стандартних програм для ЕОМ МК-61 із застосуванням *t*-критерію Ст'юдента.

Результати та обговорення. У попередніх дослідках нами встановлено, що лімфоцитарний кейлон нормалізував жирнокислотний склад мембран лімфоцитів і мав антиоксидантні властивості [10].

Проведені нами дослідження з визначення рівня продукції ендогенного кейлону під час імунної відповіді і за умов використання екзогенного лімфоцитарного кейлону показали (рисунок), що кількість кейлону зростала на першу добу імунної відповіді, була в межах норми на третю добу дослідження і вірогідно знижувалася на п'яту добу.

Визначення складу ліпідної матриці лімфоцитів у ці ж строки після дії лімфоцитарних кейлонів у дослідках *in vitro* показало, що на першу добу G₂-кейлон підвищував вміст стеаринової кис-



Рівень продукції ендогенного кейлону за умов використання екзогенного кейлону під час імунної відповіді. По осі абсцис — строки досліджень (доба); по осі ординат — кількість кейлону (мг/г)

лоти і вірогідно знижував кількість арахідонової кислоти. G₁-кейлон в цих умовах вірогідно знижував кількість лінолевої кислоти (таблиця), а також

Склад ліпідного комплексу мембран лімфоцитів після дії на них G₁- і G₂-лімфоцитарних кейлонів в залежності від часу

Показник	Умови дослідження		
	Контроль	G ₂ -кейлон	G ₁ кейлон
<i>Перша доба</i>			
C _{16:0}	56,1±4,06	44,7±2,35	61,9±3,56
C _{18:0}	15,8±2,6	26,0±2,96*	15,0±2,05
C _{18:1}	17,0±2,8	20,8±2,28	16,4±1,49
C _{18:2}	8,8±1,14	7,0±1,24	5,3±0,72*
C _{20:4}	2,3±0,28	1,3±0,29*	1,4±0,26
ΣНЖК	71,9±6,57	70,7±5,3	76,9±4,08
ΣННЖК	28,1±4,14	29,1±1,34	23,1±1,02
НЖК/ННЖК	2,6	2,42	3,32
Холестерин, мкг	0,001±±0,000037	0,0003±±0,00004*	0,001±±0,0004
<i>Третя доба</i>			
C _{16:0}	48,±2,6	56,5±3,24	57,6±2,8
C _{18:0}	23,9±2,49	17,5±2,85	17,2±1,5
C _{18:1}	19,1±1,62	16,4±2,5	17,2±1,9
C _{18:2}	7,2±0,65	8,5±1,4	6,9±1,3
C _{20:4}	1,0±0,2	1,1±0,3	1,1±0,32
ΣНЖК	72,7±4,46	74,0±5,7	74,8±3,6
ΣННЖК	27,3±2,45	26,0±3,	25,2±3,3
НЖК/ННЖК	2,66	2,8	2,96
Холестерин, мкг	0,001±±0,0004	0,0003С±0,00008*	0,0003С±0,00008*
<i>П'ята доба</i>			
C _{16:0}	54,9±3,34	49,2±2,4	41,0±4,8*
C _{18:0}	18,1±1,7	19,1±1,3	21,9±2,8
C _{18:1}	16,5±1,64	15,4±2,4	19,1±1,3
C _{18:2}	8,2±1,7	9,8±1,2	14,5±2,3
C _{20:4}	2,2±0,57	5,9±0,8*	3,5±0,62
ΣНЖК	73,0±4,98	68,8±2,1	62,9±5,27
ΣННЖК	26,9±2,39	31,1±4,16	37,1±3,55*
НЖК/ННЖК	2,71	2,21	1,69
Холестерин, мкг	0,0006±±0,0002	0,0003±±0,00004	0,001±±0,0005

П р и м і т к а. C_{16:0} — пальмітинова; C_{18:0} — стеаринова; C_{18:1} — олеїнова; C_{18:2} — лінолева; C_{20:4} — арахідонова кислота. *Різниця з нормою вірогідна, *p* < 0,05.

підвищував коефіцієнт насиченості жирних кислот. Кількість холестерину знижувалася лише за умов використання G₂-кейлону.

На третю добу кейлони вірогідно знижували лише вміст холестерину в ліпідній матриці мембран лімфоцитів, а на п'яту добу за умов дії G₂-кейлону підвищувалася кількість арахідонової кислоти (див. таблицю). При використанні G₁-кейлону кількість арахідонової кислоти мала тенденцію до зростання. Вміст пальмітинової кислоти достовірно зростає під впливом G₁-кейлону. Кейлони на п'яту добу знижували коефіцієнт насиченості жирних кислот.

Проведений аналіз отриманих результатів показав, що кейлони, які мали фазову специфічність, неоднозначно впливали на склад ліпідного комплексу мембран лімфоцитів за умов використання екзогенного лімфоцитарного кейлону під час імунної відповіді. Фазоспецифічні кейлони в цих умовах, можливо, треба використовувати через п'ять діб після введення екзогенного кейлону, коли рівень ендogenous кейлону буде нижче норми.

Таким чином, чутливість ліпідного комплексу мембран лімфоцитів до G₁- і G₂-кейлонів залежала від фаз імунної відповіді, а також від рівня продукції ендogenous кейлону. Багаторазове використання кейлонів потрібно контролювати по чутливості до них ліпідного комплексу мембран лімфоцитів та напрузі імунологічної реакції організму.

Автор висловлює щире подяку завідувачці відділенням газової хроматографії НДЛЦ Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця Т. С. Брюзгиній за проведення газохроматографічних досліджень.

Дослідження виконані по темі 01.02.02/040-93 направлення 1.2 програми ДКНТ «Здоров'я людини».

Е. Г. Гаркава

Состав липидной матрицы мембран лимфоцитов после воздействия G₁- и G₂-лимфоцитарных кейлонов при использовании экзогенного лимфоцитарного кейлона в условиях иммунного ответа

Резюме

Изучали чувствительность липидного комплекса мембран лимфоцитов, выделенных из селезенки мышей в разные сроки иммунного ответа в условиях использования экзогенного лимфоцитарного кейлона, к кейлонам, имеющим фазовую клеточную специфичность. Установлено, что действие G₁- и G₂-лим-

фоцитарных кейлонов на липидную матрицу мембран лимфоцитов было неоднозначным и зависело от уровня продукции эндогенного кейлона и фаз иммунного ответа. Фазовая специфичность лимфоцитарных кейлонов создает благоприятные условия для использования их при иммунологических нарушениях в организме.

К. Г. Гаркава

Structure of lipid matrix of lymphocyte membranes after doing G₁- and G₂-lymphocyte chalone in conditions of using exogenous lymphocyte chalone during immune response

Summary

The sensibility of lipid complex of lymphocytes to chalone which had phase cell specific, was studied. We received lymphocytes from mice spleen in different terms of immune response in conditions of using exogenous lymphocyte chalone. The fact that the effect of G₁- and G₂-lymphocyte chalones on lipid matrix was depended of level endogenous chalone and of phases of immune response, was established. The phase specific of lymphocyte chalone create good conditions for using them in immune disfunctions of organism.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Петров Р. В., Атауллаханов Р. И. Клеточные мембраны и иммунитет.—М.: Высш. шк., 1991.—144 с.
- Ивков В. Г., Берестовский Г. Н. Липидный бислой биологических мембран.—М.: Наука, 1982.—224 с.
- Губский Ю. И., Парамонова Г. Н., Болдескул А. Е. и др. Перекисная модификация мембран и изоморфный состав цитохрома P-450 микросом печени крыс в условиях антиоксидантной недостаточности // Укр. биохим. журн.—1992.—64, N 1.—С. 98—105.
- Ляшенко В. А., Дрожеников В. А., Молотковская И. М. Механизмы активации иммунокомпетентных клеток.—М.: Медицина, 1988.—С. 50—70.
- Романов Ю. А., Кетлинский С. А., Антохин А. И., Окулов В. Б. Кейлоны и регуляция деления клеток.—М.: Медицина, 1984.—207 с.
- Алексенко А. В., Пальмина Н. П. Роль липидов в функциональной активности и биосинтезе ДНК в нормальных и опухолевых клетках. Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии.—М.: Наука, 1982.—С. 84—89.
- Bullough W. S. The chalones. A review // Nat. Cancer Inst. Monogr.—1973.—N 38.—P. 5—16.
- Гаркава К. Г., Яценко В. П., Данова І. В. та ін. Біологічні ефекти тимічних кейлонів // Ліки.—1997.—№ 2.—С. 38—42.
- Способ газохроматографического определения спектра жирных кислот и свободного холестерина из одной биологической пробы: Информ. письмо / Сост. Т. С. Брюзгина, Г. Б. Афонина, Э. Я. Кравченко.—Киев, 1989.—3 с.
- Гаркава К. Г., Афонина Г. Б., Задорина О. В., Брюзгина Т. С. Влияние лимфоцитарного кейлону на функциональную активность лимфоцитов при антиоксидантной недостаточности и коррекции її вітаміном Є // Фізіол. журн.—1995.—№ 5—6.—С. 27—32.

Надійшла до редакції 18.12.97