

vel phosphorylation
153-155.
hypoxia conditions:
I energy states //

on the steady-state
- 1976. - 452, Ne

on of succinate by
8-815.

атеріал надійшов
редакції 01.03.92

УДК 616-089.843+001.6+611.77+612017.1+54647

Г.О.Бабенко, Ю.М.Завійський

Про роль цинку в формуванні імунодепресивного ефекту імурану

В опытах на морских свинках изучали влияние имурана и бесцинкового рациона на длительность функционирования аллотрансплантатов кожи, баланс цинка в организме, активность цинкзависимых ферментов в крови (лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, карбоангидразы), показатели общей иммунореактивности организма (число лимфоцитов, Е-РОК). Установлено, что под влиянием имурана и бесцинкового рациона увеличиваются сроки функционирования трансплантатов кожи (при использовании имурана в 1,8 раза по сравнению с контролем, а бесцинкового рациона - в 2,2 раза). При трансплантации кожи в условиях применения имурана снижается по сравнению с контролем уровень удержания цинка в организме, хотя абсолютная величина баланса остается положительной. Баланс цинка в организме животных при содержании их на бесцинковом рационе во все исследуемые сроки был отрицательным. В крови животных как при использовании имурана, так и бесцинкового рациона наблюдается снижение по сравнению с контролем активности лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и карбоангидразы. Абсолютное количество циркулирующих в крови лимфоцитов и Е-РОК уменьшается при введении в организм имурана и при использовании бесцинкового рациона.

Вступ

З метою продовження строків функціонування трансплантованих органів і тканин використовується обширний арсенал фармакологічних препаратів - імунодепресантів [6, 9]. Одним з них є імуран (азатіоприн) - дериват 6-меркаптопурину, який відноситься до групи хімічних імунодепресантів (аналогів пуринових основ) - антиметаболітів. Поряд з інгібуючим впливом на процеси метаболізму в імунокомпетентних клітинах, спостерігаються зміни з боку інших клітин організму, зокрема епітелію кишечника, шкіри, статевих залоз, кісткового мозку, печінки тощо. При цьому пригнічується реакція зворотної дії першого ферменту синтезу пурину та гальмується перетворення інозин-5-фосфату в аденозин-5-фосфат, що призводить до зниження в клітині вмісту аденін- та гуанінвмісних нуклеотидів, внаслідок чого інгібуються синтез нуклеїнових кислот.

Дані літератури свідчать, що імуран впливає на обмін в організмі цинку, заліза, кобальту [3, 17]. Відомо, що в процесах обміну нуклеїнових кислот беруть участь ряд мікроелементів біотиків, зокрема цинк - специфічний активатор РНК- і ДНК-полімераз [8, 9, 21], структурний компонент ДНК [5, 11, 14]. Відомо, що аліментарна не-

достатність цинку призводить до атрофії тканини тимуса, пригнічення функцій Т-клітинної ланки імунітету [15, 16, 19], відповідального в реакціях відторгнення трансплантату.

Ми вивчали вплив імурану на показники обміну цинку в організмі (баланс, активність цинкзалежних ферментів - лактатдегідрогенази, карбоангідрази, лужної фосфатази в крові) при трансплантації шкіри та можливість корекції виявлених зрушень з метою гальмування реакції відторгнення трансплантату. Для порівняння вивчався вплив імурану, з одного боку, та безцинкового раціону - з другого, на тривалість функціонування алотрансплантатів шкіри, динаміку кількості лімфоцитів і спонтанних «розеток» у крові. Тестові розеткоутворення належить істотне значення в оцінці формування імунної реакції на трансплантат. Збільшення абсолютного числа Е-РУК більше ніж на 60 % прогнозує кризу відторгнення трансплантату за 1-3 доби, а зменшення їх кількості в крові до більш як 10 % указує на відсутність активного імунологічного конфлікту та ефективність імунодепресивної терапії [10].

Методика

Досліди проведені на 27 морських свинках-самцях масою 0,45-0,60 кг. Трансплантацію шкірних клаптів (від одного донора) розмірами 1,5 x 2,0 см здійснювали під ефірним наркозом у ділянці спини.

Тварин-реципієнтів поділили на три групи: I (контроль) склали морські свинки з трансплантованою шкірою; II - тварини з трансплантованою шкірою, які отримували щодобово *per os* імуран (25 мг/кг) фірми «Welcome» (Англія) та III - морські свинки, яких протягом усього дослідження утримували на безцинковому раціоні, виготовленому за методом Бабенко [1]. Тварини I та II груп знаходилися на раціоні віварію.

Критерієм початку відторгнення трансплантантів шкіри були втрата еластичності та зниження їх температури порівняно з навколишніми тканинами, а також поява на поверхні клаптів точкових крововиливів. Про кінцеве відторгнення трансплантатів свідчила їх повна муміфікація [7].

Баланс цинку в організмі, вміст його в досліджуваних об'єктах (продукти харчування, екскременти тварин), активність лактат-дегідрогенази (КФ 1.1.1.27), лужної фосфатази (КФ 3.1.3.1) і карбоангідрази (КФ 4.2.1.1) у крові вивчали згідно з описаними методиками [2, 4, 12]. Число Т-лімфоцитів у периферичній крові визначали в реакції спонтанного розеткоутворення [12].

Визначення балансу цинку в організмі тварин проводили в обмінних клітках з плексигласу. Абсолютну величину балансу (мкг/доба) встановлювали за різницею між кількістю цинку, що поступала в організм з харчовими продуктами протягом доби та його кількістю, що виводилася з організму з екскрементами (сеча та кал) за цей же час. Отриманий цифровий матеріал зі знаками «+» чи «-» указував на позитивний (перевага надходження над виведенням) або негативний

(перевага виведення цинку в організмі.

Отриманий цифр
ням критерію і Ст

Результати та їх об

Встановлено, що п
І групи збільшуєть
ня в 5-7 разів. Пі
в організмі вираже
діб) після пересад
вому раціоні (III
менту мав негатив
(20, 25 діб) прояв

У тварин контро
тантів становила (

Таблица 1. Баланс
(мгк/доба)

Строк спостереження	Стап
До трансплантації	
Після трансплантації через	
5 діб	
10 діб	
15 діб	
20 діб	
25 діб	

(перевага виведення над надходженням) відповідно показник балансу цинку в організмі.

Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично з використанням критерію t Стюдента та методу кореляційного аналізу.

Результати та їх обговорення

Встановлено, що після пересадки шкіри в організмі тварин-реципієнтів I групи збільшується утримання цинку, що перевищує вихідні значення в 5-7 разів. Під впливом імурану (II група) затримка біоеlementу в організмі виражена менш істотно, особливо в пізні строки (20, 25 діб) після пересадки шкіри. У тварин, що знаходилися на безцинковому раціоні (III група), показник балансу протягом усього експерименту мав негативне значення, хоча в пізні строки після пересадки (20, 25 діб) проявляв тенденцію до динамічної рівноваги (табл. 1).

У тварин контрольної групи тривалість функціонування трансплантантів становила $(10,8 \pm 0,31)$ доби, початок відторгнення клаптів на

Таблиця 1. Баланс цинку в організмі морських свинок з трансплантованою шкірою (мгк/доба)

Строк спостереження	Статистичний показник	Група тварин		
		Контрольна (I група)	Тварини, які отримували імуран (II група)	Тварини, яких утримували по безцинковому раціоні (III група)
До трансплантації	$M \pm m$	$+9,8 \pm 2,1$	$+11,9 \pm 1,8$	$+10,9 \pm 2,5$
	n	10	10	7
Після трансплантації через				
5 діб	$M \pm m$	$+45,2 \pm 1,3$	$+40,5 \pm 1,8$	$-57,9 \pm 1,5$
	n	10	10	7
	P	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
10 діб	$M \pm m$	$+71,0 \pm 1,6$	$+44,4 \pm 2,1$	$-24,3 \pm 0,6$
	n	9	10	7
	P	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
15 діб	$M \pm m$		$+32,0 \pm 2,5$	$-37,2 \pm 1,3$
	n		10	7
	P		$<0,001$	$<0,001$
20 діб	$M \pm m$		$+27,7 \pm 3,1$	$-17,6 \pm 0,7$
	n		6	6
	P		$<0,001$	$<0,001$
25 діб	$M \pm m$			$-10,1 \pm 0,4$
	n			3
	P			$<0,001$

Таблиця 2. Динаміка кількості Е-РУК у морських свинок з трансплантованою шкірою (г/л)

Строк спостереження	Статистичний показник	Група тварин		
		Контрольна (I група)	Тварини, які отримували імуран (II група)	Тварини, яких утримували по безцинковому раціоні (III група)
До трансплантації	M±m	1,538±0,133	1,670±0,203	1,856±0,105
	n	10	10	7
Після трансплантації через				
3 доби	M±m	4,807±0,381	1,460±0,080	0,747±0,092
	n	10	10	7
	P	<0,001	>0,2	<0,001
5 діб	M±m	5,757±0,415	1,313±0,074	0,872±0,068
	n	10	10	7
	P	<0,001	>0,1	<0,001
10 діб	M±m	4,465±0,360	2,210±0,099	2,223±0,167
	n	7	10	7
	P	<0,001	<0,05	>0,5
15 діб	M±m		2,290±0,063	2,124±0,161
	n		10	7
	P		<0,01	>0,1
20 діб	M±m			3,310±0,355
	n			6
	P			<0,01
25 діб	M±m			5,665±1,460
	n			3
	P			<0,05
30 діб (відторгнення)	M±m	2,063±0,184	1,790±0,083	2,619±0,221
	n	10	10	7
	P*	<0,05	>0,5	<0,01
	P	<0,001	>0,1	<0,005

8-му добу, закінчення - на 12-ту добу після пересадки. Під впливом імурану тривалість функціонування шкірних клаптів підвищувалася порівняно з контролем у 1,8 разів і становила (19,5 ± 0,41) доби, початок відторгнення клаптів - на 17-ту добу, закінчення - на 21-ту добу після пересадки. Значення показника тривалості життя трансплантатів у морських свинок III групи перевищувало аналогічне в контрольній групі в 2,2 рази і становило (24,0 ± 1,40) доби, початок відторгнення клаптів на - 18-ту добу, закінчення - на 28-му добу після пересадки. Таким

чином, між показ функціонування а (P<0,001) зворотна

Аналіз результа цинкзалежних фер подразника (алот (3, 5 діб) у кро дегідрогенази, лу інгібуванням і по

клапті. Динаміка аналогічний хара змін менше вира у всі досліджува ферментів знижу лише в період в

Отримані резу утримання цинк як під впливом і раціоні, супровод ментів (лактатд крові.

Спостереження показали, що у строки функціо вірогідно підвищ клаптики шкіри, з більшою міро місце гальмуван Лише в пізні ст та 20, 25 діб стерігається дост зниженням в пе лютного числа л за спрямованість

Наведені вищ імовірних шляхі вплив на обмін припущення пев які вказують, п атрофії шкіри, уже згадувалося

Висновки

Отримані резул і безцинкового рансплантатів ш кового раціону

ISSN 0201-8489. Фіз

чином, між показниками балансу цинку в організмі та тривалістю функціонування алотрансплантатів шкіри існує статистично вірогідна ($P < 0,001$) зворотна кореляційна залежність.

Аналіз результатів, отриманих при вивченні динаміки активності цинкзалежних ферментів у крові показав, що під впливом антигенного подразника (алотрансплантат шкіри) в ранні строки після пересадки (3, 5 діб) у крові тварин I групи підвищується активність лактатдегідрогенази, лужної фосфатази та карбоангідази, з наступним інгібуванням і повторною активацією за добу, коли відторгувалися клапти. Динаміка змін активності ферментів під впливом імурану має аналогічний характер з тією лише різницею, що інтенсивність цих змін менше виражена, ніж у контрольних тварин. У тварин III групи у всі досліджувані строки після пересадки шкіри активність указаних ферментів знижується порівняно з показниками норми і підвищується лише в період відторгнення трансплантатів.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що зменшення утримання цинку в організмі тварин-реципієнтів, яке спостерігається як під впливом імурану, так і при утриманні тварин на безцинковому раціоні, супроводжується інгібуванням активності цинкзалежних ферментів (лактатдегідрогенази, лужної фосфатази, карбоангідази) в крові.

Спостереження за динамікою кількості Е-РУК у периферичній крові показали, що у морських свинок контрольної групи у всі досліджувані строки функціонування трансплантатів число Е-розеток статистично вірогідно підвищене і знижується лише за добу, коли відторгуються клаптики шкіри. У тварин, які перебували на безцинковому раціоні, з більшою мірою вираженості, ніж при застосуванні імурану, має місце гальмування підвищення кількості Е-РУК порівняно з контролем. Лише в пізні строки після пересадки (10, 15 діб при введенні імурану та 20, 25 діб при утримуванні на безцинковому раціоні) спостерігається достовірне підвищення їх числа, яке змінюється повторним зниженням в період відторгнення трансплантатів (табл. 2). Зміна абсолютного числа лімфоцитів і кількості Е-РУК у крові має аналогічний за спрямованістю характер.

Наведені вище факти дають можливість припустити, що одним з імовірних шляхів реалізації імунодепресивного ефекту імурану є його вплив на обмін цинку в організмі. Опосередкованим доказом цього припущення певною мірою можуть бути дані досліджень [11, 18, 20], які вказують, що зниження запасів цинку в організмі призводить до атрофії шкіри, епітелію слизових оболонок і статевих залоз, що, як уже згадувалося, спостерігається і при застосуванні імурану.

Висновки

Отримані результати досліджень свідчать, що 1) під впливом імурану і безцинкового раціону збільшується тривалість функціонування алотрансплантатів шкіри (при застосуванні імурану в 1,8 разів, а безцинкового раціону в 2,2 рази); 2) при трансплантації шкіри на фоні

використання імурану зменшується порівняно з контролем рівень утримання цинку в організмі, хоча абсолютна величина балансу і залишається додатною; 3) баланс цинку в організмі тварин за умов перебування їх на безцинковому раціоні в усі досліджувані строки набуває негативного значення; 4) у крові тварин як при застосуванні імурану, так і при утриманні їх на безцинковому раціоні спостерігається зниження порівняно з контролем рівня активності лактатдегідрогенази, лужної фосфатази та карбоангідрази; 5) абсолютна кількість циркулюючих в крові лімфоцитів і Е-РУК зменшується як при введенні в організм імурану, так і при застосуванні безцинкового раціону.

G.O.Babenko, Yu.M.Zaviysky

ON THE ROLE OF ZINC IN FORMATION OF THE IMMUNO-DEPRESSIVE EFFECT OF IMURAN

Imuran has been studied for its influence on the balance of zinc in organism, activity of lactate dehydrogenase, carboanhydrase, alkali phosphatase in the blood in case of skin transplantation. It has been found that imuran and zinc-free ration influence similarly the lifetime of skin allotransplantants, zinc balance in organism, activity of enzymes, dynamic changes in lymphocytes circulating in blood and quantity of E-POK.

Medical Institute of Ivano-Frankovsk,
Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабенко Г.О. О моделировании болезней, связанных с экзогенным дефицитом микроэлементов в организме. - В кн.: Принципы экспериментального моделирования патологических процессов (Тез. докл. респ. конф. патофизиологов). - К., 1967. - С. 11-43.
2. Бабенко Г.О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях. - К.: Здоров'я, 1968. - 138 с.
3. Бабенко Г.А. Об участии микроэлементов в иммуногенезе. - В кн.: Материалы межвуз. науч. конф. по микроэлементам в сельском хозяйстве и медицине: Иркутск, 1971. - Вып. 108. - С. 11-12.
4. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А.А.Покровского. - М.: Медицина, 1969. - 651 с.
5. Власюк П.А., Жидков В.А., Компаниец М.И. Влияние марганца и цинка на вторичную структуру ДНК. - В кн.: Тез. докл. IV Междун. биофиз. конгресса. - М., 1972. - С. 211.
6. Иммунология / Под ред. Г.Бундшу, Шнее Вайса. - К.: Наук. думка, 1981. - 480 с.
7. Лисяний Н.И. Влияние антилимфоцитарной сыворотки против интактных и сенсibiliзирванных лимфоидных клеток на индукцию гуморального иммунного ответа и иммунологической толерантности у морских свинок. - В кн.: Патологическая физиология тканевой несовместимости. - М., 1976. - С. 26-32.
8. ПереПЛенко С.Д., Исаков Х.И., Маваева Э.Н. Влияние избытка меди на обмен нуклеиновых кислот в органах кролика. - Узб. биол. журн. - 1979. - № 1. - С. 32-34.
9. Петров Р.В., Манько В.М. Иммунодепрессоры. - М.: Медицина, 1971. - 300 с.
10. Прикладная иммунология / Под ред. А.А.Сохина, Е.Ф.Чернушенко. - К.: Здоров'я, 1984. - 320 с.
11. Сорока В.Р. Металлы и нуклеиновые кислоты. - В кн.: Биологическая роль микроэлементов и их применение в сельском хозяйстве и медицине (Тез. докл. VIII Всесоюз. конф.). - Ивано-Франковск, 1978. - Ч. 2. - С. 121-122.
12. Щеклик Э. Клиническая ферментология. - Варшава: Польск. гос. мед. изд-во, 1966. - 490 с.
13. Abou-Mourad N., Farah F.S., Stell D. Dermatopathic changes in Hypocincemia // Arch. Dermatol. - 1979. - 115, № 8. - P. 956-958.
14. Bach J., Judet C., Arce S., Dormont Z. Exploration de la fonction thymique chez l'homme // Le phenomene des lymphocytes T chez l'homme // Nouv. presse med. - 1973. - 3. - P. 655-660.

15. Burch R.E., Sullivan J.J. Clin. N. Amer. - 1976.
16. Eichhorn G.L., Riskind on the structure and function Biochem. Part. 1. - Dor
17. Fraker P.J., Luecke R.W. - 179th ACS Nat. Me
18. Fraker P.J. Zinc deficiency - 2, № 2. - P. 155-163.
19. Kurzela L., Ruzickova J. jako jeden z vedlejších u
20. Morrison S.A., Russel R. adaptation in cirrhotics /
21. Prasad A.S. Nutricional
22. Strobel C.T., Byrne W.J. parenteral nutrition // I
23. Valenzuela P., Morris Biochem. and Biophys. I

Ів.-Франків. мед. ін-т
М-ва охорони здоров'я Укр

15. Burch R.E., Sullivan J.F. Clinical and nutritional aspects of zinc deficiency and excess // *Med. Clin. N. Amer.* - 1976. - 60, № 4. - P. 675-678.
16. Eichhorn G.L., Rifkind J., Skin Y.A. et al. Recent studies on the effects of divalent metal ions on the structure and function of nucleic acids. - In: *Metal-Ligand Interactions Org. Chem. and Biochem. Part. 1.* - Dordrecht-Boston, 1977. - P. 41-51.
17. Fraker P.J., Luecke R.W. The effect of dietary zinc deficiency on immunity in the inbred mouse. - 179th ACS Nat. Meet. Houston, Tex., 1980. Abstr. Pap. - Washington, D.S., s.a. - P. 148.
18. Fraker P.J. Zinc deficiency: a common immunodeficiency state // *Surv. Immunol. Res.* - 1983. - 2, № 2. - P. 155-163.
19. Kurzela L., Ruzickova J., Vulterunova M., Zamratzlova E. Zvýšene ukládání železa v játrech jako jeden z vedlejších účinků léčby imuranem // *Unitrilek.* - 1978. - 24, № 8. - P. 786-794.
20. Morrison S.A., Russel R.M., Carney E.A., Oaks E.V. Zinc deficiency: a cause of abnormal dark adaptation in cirrhotics // *Amer. J. Clin. Nutr.* - 1978. - 31, № 2. - P. 276-281.
21. Prasad A.S. Nutritional zinc today // *Nutr. Today.* - 1981. - 16, № 2. - P. 4-11.
22. Strobel C.T., Byrne W.J., Abramovits W. et al. A zinc-deficiency dermatitis in patients on total parenteral nutrition // *Int. J. Dermatol.* - 1978. - 17, № 7. - P. 575-581.
23. Valenzuela P., Morris R.W., Faras A. et al. Are all nucleoside transferases metalloenzymes. - *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* - 1973. - 53, № 3. - P. 1036-1041.

Ів.-Франків. мед. ін-т

М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов

до редакції 04.01.94