УДК 612.017.2

М. В. Горіла, Н. І. Штеменко

Дніпропетровський національний університет

ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ АНТИГЕН–АНТИТІЛО У ПРИСУТНОСТІ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ ТА ЦИСПЛАТИНУ

Досліджено вплив двох ксенобіотиків: кластерної сполуки ренію з адамантановим лігандом та цисплатину на реакцію взаємодії антиген–антитіло з використанням імунодифузійних методів. Показано принципово різний характер впливу вищезазначених агентів на імунохімічні взаємодії.

Two xenobiotics (rhenium cluster compound with adamantan and cisplatin) influences were investigated on the antigen–antibody reactions with immunodiffusion methods. The different characters of influences were shown.

Вступ

Наші попередні роботи [8; 14] були присвячені дослідженню впливу комплексних сполук ренію з органічними лігандами на взаємодію антиген–антитіло (*Ag–Ab*) із застосуванням імунохімічних методів. Був показаний слабкий вплив комплексних сполук ренію на реакцію *Ag–Ab* та визначені деякі особливості взаємодії комплексних сполук ренію з білками сироватки крові людини. Всебічне вивчення біохімічних властивостей металоорганічних сполук пов'язане з нещодавно виявленими протипухлинною, антиоксидантною, противірусною дією цих сполук [9–12]. Особливу увагу приділено нетоксичним і малотоксичним сполукам, серед яких знаходяться кластерні сполуки ренію [5]. Найважливішою ланкою преклінічних досліджень та введення нових препаратів у медичну практику є дослідження їх імуномодулюючих властивостей.

Мета даної роботи – порівняння впливу комплексних сполук ренію та цисплатину на реакцію *Ag–Ab*, яка проводилася в умовах імунохімічних методів [1] та порівняння даних щодо різних ксенобіотиків.

Матеріал і методи досліджень

Перед початком досліджень було визначено оптимальний титр сироваток для кожного випадку взаємодії: анти-*IgG*, анти-*IgA*, анти-*IgM* та оптимальну кількість стандартної сироватки. Об'єкти досліджень – кластерні сполуки ренію (*III*) та цисплатин. Готувалися водні розчини сполук у діапазоні концентрацій від 10^{-3} до 10^{-11}. Взаємодія антиген–антитіло вивчалася за допомогою методів імунодифузії за Ухтерлоні та Манчині [1; 6; 7]. Як антиген використовували стандартну сироватку крові людини (виробництво підприємства бакпрепаратів ДНДІЕМ, м. Нижній Новгород, Росія). Антитілами були моноспецифічні сироватки проти *IgA*, *IgG*, *IgM* (виробництво підприємства бакпрепаратів ДНДІЕМ, м. Нижній Новгород, Росія). Вивчався ренієвий комплекс з органічним лігандом – адамантаном [10; 12].

Дослід проводили за умов попередньої інкубації сполуки ренію з антигеном (+37°С, 1 година). Усі експерименти проводили у шестикратній повторності. Вивчали зсуви імунопреципітаційних ліній під час імунодифузії за Ухтерлоні та зміни діаметра преципітаційних кіл із пластинок імунодифузії за Манчині порівняно з контролем. Статистичну обробку даних проводили за [4].

© Горіла М. В., Штеменко Н. І., 2005

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2005. 13(2).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

Результати та їх обговорення

Порівняння імуномодулюючих характеристик майбутніх нових фармацевтичних препаратів з відомими широко вживаними у медичній практиці ліками дає змогу не лише співставити отримані ефекти, а також з'ясувати деякі аспекти міжмолекулярної взаємодії вищезгаданих сполук. Крім того дослідження білків за допомогою сучасних імунохімічних методів надає можливість виявити особливості їх організації, механізму функціонування, гомології з іншими білками. До суттєвих переваг імунохімічних методів належать: точність і чутливість імунохімічних методів аналізу, заснованих на специфічному зв'язуванні антитіл із даним антигеном, що не мають собі рівних і широко використовуються у біологічних дослідженнях [1].

Чутливість методів дуже висока і складає від 10^{-6} до 10^{-12} г/л.

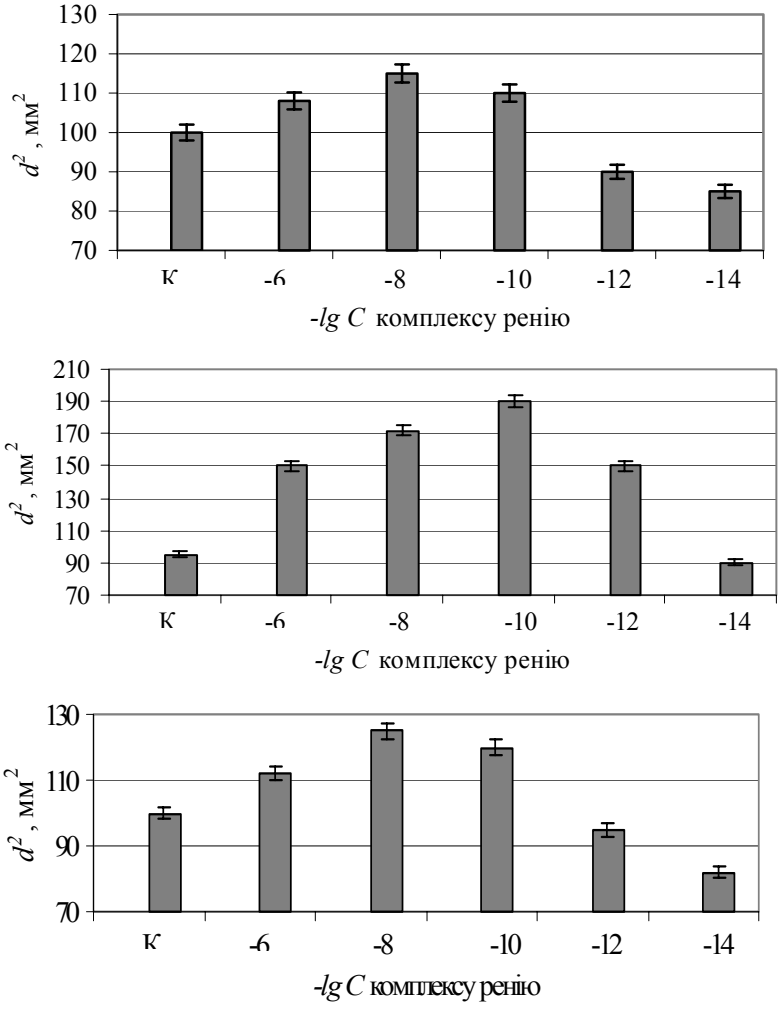

Рис. 1. Вплив адамантанового комплексу ренію на реакцію антиген–антитіло в умовах преінкубації з антигенами: *A – IgG, B – IgM, C – IgA*; *K* – контроль без комплексу ренію

Згідно з результатами, отриманими у попередніх дослідженнях, усі комплексні сполуки ренію можна умовно поділити на три групи у плані характеру їх впливу на імунохімічні реакції. Перша група складається з порівняно високотоксичних агентів,

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2005. 13(2).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

що пригнічують імунохімічні взаємодії більш як на 40 % у середньому (кластерні сполуки ренію з включенням цезію). До другої групи належать сполуки, що мають порівняно низьку токсичну активність (дихлортетра-μ-(і-бутират) диреніум (*III*) та тетрахлор-μ-(γ-амінобутират) диреніум (*III*) хлор та інші). До третьої групи сполук, що активують імунохімічні взаємодії, входить адамантановий комплекс ренію. Останній факт свідчить про можливу багатофункціональність згаданої сполуки та, на нашу думку, найбільш перспективний для подальших досліджень.

Із таких причин було вирішено дослідити вплив адамантанової кластерної сполуки ренію та цис-діамінодихлорплатини *II*, або цисплатину, який є відомим антиканцерогенним лікарським препаратом, на взаємодії між антитілами й антигенами. Найпоказовіші результати впливу кластерної сполуки ренію та цисплатину на утворення імунних комплексів при передінкубації з антигеном представлені на рисунках 1 та 2.

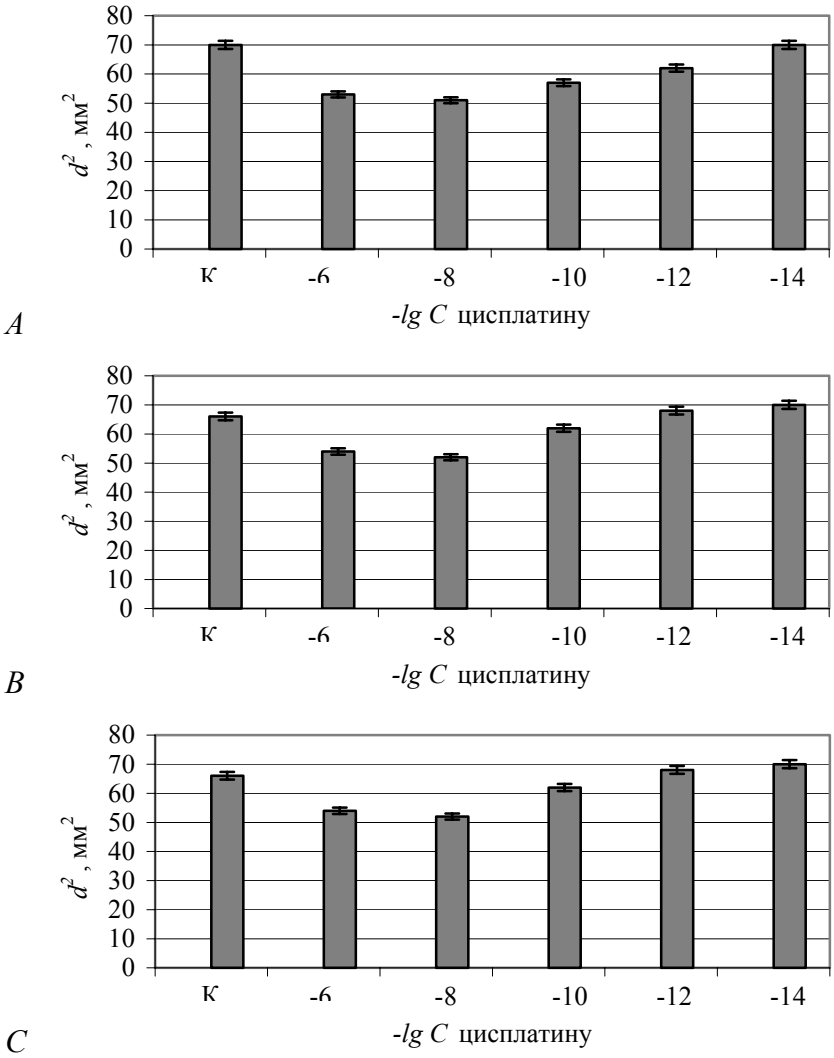

Рис. 2. Вплив цисплатину на реакцію антиген–антитіло в умовах преінкубації з антигенами: *A – IgG, B – IgM, C – IgA*; *К* – контроль без цисплатину

Результати свідчать про те, що ксенобіотики чинять на взаємодію антиген–антитіло впливи різного характеру. Якщо комплексна сполука ренію активує імунохімічні взаємодії (у середньому на 20 %), то цисплатин пригнічує імунохімічні взає-

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2005. 13(2).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

модії (у середньому також на 20 %). Дані, представлені на рисунках, свідчать, що в умовах інкубації ксенобіотичних агентів із антигеном вплив на реакції антиген–антитіло найбільший під час реагування з *IgM* та *IgG*. Тобто, ряд реакційної здатності імуноглобулінів при цьому мав такий вигляд: *IgM* < *IgG* < *IgA*.

Слід зазначити, що, незважаючи на різну чутливість обох методів імунодифузії, вони дають змогу зробити висновок, що найбільший вплив ксенобіотичних сполук на реакцію *Ag–Ab* для всіх імуноглобулінів спостерігається у діапазоні 10^{-8}–10^{-10} М.

Вплив на *IgG* та *IgA* можна пояснити мономерною та димерною (відповідно) будовою білків [2; 7]. Імуноглобуліни *M*, як відомо, є пентамерами, тому вплив на *IgM* відрізняється за характером.

Висновки

Вперше досліджено вплив кластерних сполук ренію та цисплатину на імунохімічні взамодії білків *g*-фракції сироватки крові людини – імуноглобулінів (*IgA*, *IgG*, *IgM*) за допомогою методів імунодифузії за Манчині та Ухтерлоні. Виявлено різний характер впливу, що спостерігається на реакцію антиген–антитіло в умовах інкубації з антигеном (*IgA*, *IgG*, *IgM*).

Зміни антигенних властивостей можуть бути пов’язані з конформаційними змінами білків під впливом комплесних сполук ренію та цисплатину, але це не призводить до повного зсуву комплементарності у ділянках взаємодій антигенів з антитілами.

Вірогідно атоми ренію зв’язуються з молекулою білка через імідазольне кільце амінокислоти гістидину (*His*) [14], а цисплатин – через сіркомісткі зв’язки амінокислот цистеїну та, можливо, метіоніну.

Бібліографічні посилання

1. **Березин В. А.** Иммунохимические методы анализа / В. А. Березин, Г. М. Шевченко, В. О. Павлов. – 1992. – 84 с.
2. **Кетти Д.** Антитела. Методы. – М., 1991. – 328 с.
3. **Координационные соединения металлов** в медицине / Е. Е. Крисс, И. И. Волченскова, А. С. Григорьева и др. – К.: Наукова думка, 1986. – 216 с.
4. **Лакин Б. Ф.** Биометрия. – М., 1990. – 280 с.
5. **Олійник С. А.** Токсикологія сполук ренію: погляд на проблему / С. А. Олійник, Н. І. Штеменко, Н. О. Горчакова // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 1. – С. 3–12.
6. **Поттер Е. У.** Иммунология. Практикум. – К., 1989. – 343 с.
7. **Фримель Х.** Основы иммунологии / Х. Фримель, И. Брок. – М., 1986. – 346 с.
8. **Штеменко Н. І.** Дослідження впливу кластерних сполук ренію на взаємодію антиген–антитіло методом імунодифузії за Ухтерлоні / Н. І. Штеменко, М. В. Горіла, Л. М. Александрова // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2002. – Т. 10, вип. 2. – С. 100–104.
9. **Compared effects** of rhutenium red and cis *[Ru(NH$_3$)$_4$Cl$_2$]Cl* on the isolated ischaemic-reperfused rat heart / A. Leperre, H. Millart, A. Prevost et all. // Fundam. Clin. Pharmacol. – 1995. – Vol. 9. – P. 545–553.
10. **Eastland G. W.** Studies of rhenium carboxylates as antitumor agents. Part II. Antitumor studies of bis(mupropionato)diaquotetrabromodirhenium (III) in tumor-bearing mice / G. W. Eastland, G. Yang, T. Thompson // Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 1983. – Vol. 5, N 7. – P. 435–438.
11. **Keppler B. K.** Antitumor properties of metal complexes / B. K. Keppler, E. A.Vogel // Handbook of metal-ligand interaction in biological fluids – bioinorganic medicine. – N-Y.: Academic Press Limited, 1995. – Vol. 2, part 3. – P. 1200–1229.

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs’kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2005. 13(2).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

12. **KP 46**, a new chemotherapeutic drug exerts its antitumor effect by induction of apoptosis / B. Winter, T. Schilling, D. C. Grey et all. // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. – 1998. – Vol. 106, N 1. – P. 83.
13. **Shtemenko A. V.** Chemistry of binuclear Rhenium clusters / A. V. Shtemenko, B. A. Bovykin // Rhenium and Rhenium Alloys. – Pensilvania: TMS publication, 1997. – P. 189–197.
14. **Shtemenko N. I.** Interaction of Rhenium cluster compounds with human blood proteins / N. I. Shtemenko, M. V. Gorelaya, L. M. Alexandrova // Metal Ions in Biology and Medicine. – 2002. – Vol. 7. – P. 34–36.

Надійшла до редколегії 01.11.05.

УДК 581.522.4:625.712.4:632.112

І. П. Григорюк, В. І. Ткачов, П. П. Яворівський

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
Київське комунальне об'єднання зеленого будівництва та експлуатації зелених насаджень міста «Київзеленбуд»

АНАТОМІЧНА АДАПТАЦІЯ СІЯНЦІВ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН ДО РІЗНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ҐРУНТУ

Досліджено адаптивні зміни анатомічних характеристик сіянців деревних рослин в умовах різного водозабезпечення ґрунту. Установлено відміни між кількістю та формою продихів, довжиною жилок для листяних порід і площею центрального циліндра для хвойних сіянців деревних рослин.

Tree seedlings anatomical parameters adaptation to different soil water supply levels were studied. Differences in stomata number and shape and fiber length for leaf-bearing species and central cylinder area for coniferous species have been determined.

Вступ

Адаптація сіянців деревних рослин до недостатнього водозабезпечення – полігенна ознака, яка включає значну кількість різноспрямованих процесів, у тому числі й анатомічне пристосування листків, стовбура, кореневої системи тощо. Функціонування механізмів адаптації, зокрема осмотичної, колоїдної та продихової регуляції, обмінних і енергетичних реакцій, прямо визначається будовою й опушеністю листків, товщиною кутикули, кількістю та формою продихів листків деревних рослин [5; 6]. Тому дослідження анатомічної адаптації сіянців деревних рослин до нестачі вологи в ґрунті є актуальним завданням, яке спрямоване на з'ясування загальних механізмів формування та регуляції стійкості рослин до несприятливих умов середовища [7; 9].

Особливої нагальності дана проблема набуває при догляді за деревними рослинами в умовах антропогенно зміненого середовища, коли на дію недостатнього водозабезпечення накладається стресова дія дефіциту або надлишку елементів мінерального живлення, забруднення шкідливими речовинами, перебіг температурного та газового режимів [1; 6].

Виходячи з цього, наші експерименти були спрямовані на вивчення адаптивних змін анатомічних характеристик сіянців деревних рослин за умов різного водозабезпечення. Водночас важливим було також встановити відміни за кількістю та формою продихів, ростовою реакцією, довжиною жилок для листяних і площі центрального циліндра для хвойних видів сіянців деревних рослин із метою складання шкали

© Григорюк І. П., Ткачов В. І., Яворівський П. П., 2005