

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ЗРУШЕННЯ ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького (м. Львів)

Дане дослідження є фрагментом планової наукової роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького «Патогенетичні аспекти формування алергічних і запальних процесів, вплив їх на реактивність організму та фармакокорекція», № державної реєстрації 0106U012669.

Вступ. Бронхіальна астма (БА) є однією з найактуальніших проблем сучасної педіатрії, терапії та алергології [3,4,8]. Згідно даних міжнародних досліджень за останній час відмічено зростання захворюваності на бронхіальну астму. Більше 100 мільйонів людей у світі хворіють на бронхіальну астму. Дані останніх років показують на зростання захворюваності та смертності від БА у США, Англії, Австрії, Росії, Україні. Результати епідеміологічних досліджень свідчать про те, що в більшості країн на БА страждають від 4 до 8% дорослого населення, а помирають до 250000 осіб за рік.

На сьогодні загальноприйнятим представленням про патогенез БА є теорія хронічного еозинофільного запалення респіраторного тракту, домінуючу роль в розвитку якого відіграють прозапальні цитокіни (ЦК) [1]. Останніми роками активно обговорюється питання про роль порушення цитокінового статусу в ініціації та прогресуванні запального процесу в бронхолегеневій системі [5]. Скомпрометовані система імунітету та процеси секреції цитокінів під впливом різних чинників можуть змінювати свої властивості й тим формувати важкість перебігу захворювання, оскільки імунна система за допомогою каскаду цитокінів здійснює імунну відповідь [3,4].

Цитокіни – глікозильовані поліпептиди, що регулюють та визначають природу імунної відповіді. Гостра запальна реакція ініціюється внаслідок активації тканинних макрофагів та секреції запальних цитокінів, зокрема фактора некрозу пухлин – α (ФНП- α), інтерлейкін-1 (ІЛ-1) та інтерлейкін-6 (ІЛ-6) [1,3], котрі є причиною багатьох локальних та системних змін, отриманих при розвитку гострої запальної відповіді. Перебіг та інтенсивність запальної відповіді контролюється деякими цитокінами. Підтип ІЛ-1 одним із перших включається до відповідної захисної реакції при дії патогенних факторів [2,9]. Цей цитокін індукуює продукцію ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-6, інтерферону- γ (ІФН- γ) та ФНП- α . Слід враховувати, що гіперпродукція ІЛ-1 супроводжується симптомами запалення і може

бути центральною ланкою патогенезу неінфекційних та інфекційних захворювань [6,7]. Інтерлейкіни 4 і 10 (ІЛ-4, ІЛ-10) приймають участь в обмеженні рівня запальної відповіді шляхом пригнічення секреції запальних цитокінів, зокрема ІЛ-1 та ФНП- α [9], регулюючи таким чином ступінь тканинних пошкоджень. Проте особливості цитокінового забезпечення запальної інфекції при БА залишаються недостатньо вивченими і є вельми актуальними.

Згідно сучасним уявленням, при даному бронхолегеновому захворюванні у дихальних шляхах відбуваються значні зміни механізмів підтримання гомеостазу – системи перекисного окиснення ліпідів – антиоксидантного захисту та балансу цитокінів [6,7]. За останні роки експериментатори і клініцисти привертають увагу дослідженням, які стосуються впливу препаратів, що мають імунокоригуючі та антиоксидантні властивості. У зв'язку з цим заслуговує на увагу проведення дослідження впливу тіотриазоліну на лікування експериментальної БА і на показники цитокінового статусу зокрема.

Метою даного дослідження стало визначення характеру порушень вмісту рівня прозапальних інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і фактору некрозу пухлин- α (ФНП- α) та протизапальних цитокінів інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) у сироватці крові морських свинок та встановлення впливу препарату тіотриазоліну на цитокіновий профіль за умов формування експериментальної бронхіальної астми.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводились на 72 морських свинках (самці) масою 180 – 220 г, поділених на 6 груп по 12 тварин у кожній. До I групи (контроль) відносили інтактні морські свинки, до II – тварини з експериментальною БА (5-а доба), до III – морські свинки на 19-у добу модельного процесу, до IV – тварини з експериментальною БА (26-а доба), до V – мурчак на 33-ю добу БА до лікування і VI – морські свинки з БА на 33-ю добу після лікування тіотриазоліном, який вводився внутрішньом'язово у дозі 100мг/кг маси протягом 10 днів. Експериментальна модель БА відтворювалась на морських свинках за методом В. І. Бабица (1979). Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985). Усім групам морських

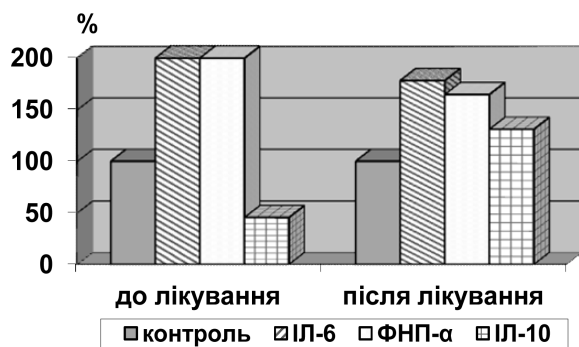


Рис. Вплив тіотриазоліну на рівень ФНП-α, ІЛ-6 та ІЛ-10 у крові морських свинок у динаміці формування БА.

свинок здійснювали визначення концентрації цитокінів: ФНП-α, ІЛ-6 та ІЛ-10 в сироватці крові за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням тест-систем фірми «Diaclone» (Франція).

Цифрові результати опрацьовані статистичним методом з використанням критерію Стюдента.

Результати досліджень та їх обговорення.

При вивченні системи цитокінів при експериментальній БА було встановлено, що в усі досліджувані доби експерименту мали місце вірогідні зміни концентрації як прозапальних, так і протизапальних цитокінів у порівнянні з групою інтактних тварин. Також нами проводилось порівняння одержаних даних не лише груп тварин з БА і здорових морських свинок, але й між різними дослідними групами тварин, які піддавались впливу антигенного чинника та зокрема тривалості його дії. Під час дослідження прозапального ЦК ІЛ-6 було виявлено збільшення його концентрації однаково на 34,7% ($p \leq 0,05$), як на 19-у, так і на 26-у доби експерименту в порівнянні з мурчачами II групи. Далі, на 33-ю добу БА встановлено ще активніше його зростання на 58,9% ($p \leq 0,05$) проти 5-ї доби модельного процесу БА. Подібна тенденція спостерігалась і з боку наступного цитокіна – ФНП-α, який є типовим прозапальним цитокіном і одним із маркерів неспецифічного генералізованого запалення. Відмічаємо поступове підвищення даного показника в залежності від тривалості патологічного процесу: на 19-у, 26-у і 33-ю доби ФНП-α

збільшується відповідно на 12,7% ($p \leq 0,05$), 23,9% ($p \leq 0,05$) і 47,6% ($p \leq 0,05$) відносно групи мурчаків на 5-у добу експерименту. Отже, результати досліджень цитокінового профілю в сироватці крові за умов експериментальної БА встановили збільшення рівня пулу прозапальних ЦК в залежності від тривалості алергічного процесу, особливо найбільше виражене в тварин п'ятої групи.

Аналіз рівня протизапального цитокіна ІЛ-10 на 19-у добу БА показали його зменшення на 24,7% ($p \leq 0,05$) при порівнянні з 5-ю добою експерименту. Суттєве зменшення ІЛ-10 фіксували по мірі розвитку експериментальної БА. Зменшення даного ЦК спостерігалось на 26-у добу на 32,8% ($p \leq 0,05$) і на 33-ю добу на 53,2% ($p \leq 0,05$) напроти п'ятої групи мурчаків.

Таким чином, дослідження цитокінів (ФНП-α, ІЛ-6 та ІЛ-10) показало підвищення прозапальних та зниження протизапальних інтерлейкінів, що вказує на порушення рівноваги між про- і протизапальними ЦК.

Введення тіотриазоліну призводило до зниження ІЛ-6 на 43,7% ($p \leq 0,05$), ФНП-α на 41,9% ($p \leq 0,05$) та істотного підвищення ІЛ-10 на 86,1% ($p \leq 0,05$) в порівнянні з групою тварин, які не піддавались впливу цього препарату (рис.).

Висновки. Оцінюючи результати досліджень, можна зробити висновок про суттєву перевагу прозапальної активності цитокінів, яка зростає по мірі розвитку патологічного процесу, і, водночас, зниження протизапального ІЛ-10. Застосування імунокоригувального, антиоксидантного і мембранопротекторного препарату тіотриазоліну впродовж 10 днів позитивно вплинуло на цитокіновий профіль і сприяло суттєвому підвищенню рівня інтерлейкіну-10, біологічні ефекти якого направлені на супресію як продукції моноцитами ЦК ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП-α, так і макрофагальної цитотоксичної активності [9].

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані свідчать про доцільність призначення тіотриазоліну в комплексній терапії, що пов'язано з коригуючою дією його на порушений стан імунної системи морських свинок за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми, та диктує необхідність проведення подальших як експериментальних, так і клінічних досліджень.

Література

- Абатуров О. Е. Вміст прозапальних інтерлейкінів ІЛ-1 та ІЛ-6 у сироватці крові дітей з повторними та тривалими гострими респіраторними захворюваннями / О. Е. Абатуров, І. Л. Височина // Укр. медичний часопис. – 2002. – №9-10. – С. 122-124.
- Демьянов А. В. Диагностическая ценность исследований уровней цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, №3. – С. 20-33.
- Дудка П. Ф. Клінічні аспекти порушення на рівні опозиційних цитокінів у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень / П. Ф. Дудка, Д. В. Добрянський, Н. Г. Бичкова // Лікарська справа. – 2009. – №5-6. – С. 27-31.
- Лапшин В. Ф. Астма-фенотипи в детском возрасте / В. Ф. Лапшин, Т. Р. Уманец // Здоров'я України. – 2009. – №4/1. – С. 12-14.
- Нікітін Є. В. Роль цитокінів у патогенезі інфекційних захворювань / Є. В. Нікітін, Т. В. Чабан, С. К. Сервецький // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 1. – С. 51-57.

-
-
6. Победьонна Г. П. Системні порушення цитокінового, оксидантного та стреслімітуючого гомеостазу при загостренні бронхіальної астми важкого перебігу / Г. П. Победьонна // Астма та алергія. – 2005. – № 2-4. – С. 22-24.
 7. Чернушенко Е. Ф. Актуальные проблемы иммунологии во фтизиатрии и пульмонологии / Е. Ф. Чернушенко // Укр. пульмонол. журн. – 2003. – № 2. – С. 94–96.
 8. Aganche I. Untangling asthma phenotypes and endotypes / I. Aganche, C. Akdis, M. Jutel [et al.] // Allergy. – 2012. – Vol. 67, Is. 7. – P. 835–846.
 9. Antunes. G. Systemic cytokine levels in community-acquired pneumonia and their association with disease severity / G. Antunes, S. A. Evans, J. L. Lordan, A. J. Frew // Eur. Respir. J. – 2002. – Vol. 20. – P. 990-995.

УДК 616. 248-07: 616. 155. 3-097. 37 – 07]-085. 274-092. 9

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ЗРУШЕННЯ ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

Регада М. С., Колишецька М. А., Ковалишин О. А.

Резюме. Метою нашого дослідження було визначення характеру порушень вмісту рівня прозапальних інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і фактору некрозу пухлин- α (ФНП- α) та протизапальних цитокінів інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) у сироватці крові морських свинок та оцінка впливу препарату тіотриазоліну на цитокіновий профіль за умов формування експериментальної бронхіальної астми (БА).

Встановлено суттєву перевагу прозапальної активності цитокінів, яка зростає по мірі розвитку патологічного процесу, і, водночас, зниження протизапального ІЛ-10. Виявлено коригуючу дію тіотриазоліну на досліджувані показники цитокінового профілю.

Ключові слова: бронхіальна астма, цитокіни, тіотриазолін.

УДК 616. 248-07: 616. 155. 3-097. 37 – 07]-085. 274-092. 9

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ТИОТРИАЗОЛИНА НА СДВИГ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА В СЫРОВАТКЕ КРОВИ ПРИ УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Регада М. С., Колишецкая М. А., Ковалышин О. А.

Резюме. Целью нашей работы было определение характера нарушений содержимого уровня провоспалительных интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухолей- α (ФНП- α) и противовоспалительных цитокинов интерлейкина-10 (ИЛ-10) в сыворотке крови морских свинок и установления влияния препарата тиотриазолина на цитокинный профиль при условиях формирования экспериментальной бронхиальной астмы (БА).

Установлено существенное преимущество воспалительной активности цитокинов, которая растет по мере развития патологического процесса, и, в то же время, снижения противовоспалительного ИЛ-10. Обнаружено корректирующее действие тиотриазолина на исследуемые показатели цитокинного профиля.

Ключевые слова: бронхиальная астма, цитокины, тиотриазолин.

UDC 616. 248-07: 616. 155. 3-097. 37 – 07]-085. 274-092. 9

The Influence of Thiotriazoline on the Cytokine Status Disturbances in the Blood Serum under the Condition of Experimental Bronchial Asthma

Regeda M. S., Kolishetska M. A., Kovalyshyn O. A.

Abstract. Bronchial asthma (BA) is one of the most actual problems of modern paediatrics, therapy and allergology. The general representation of its pathogenesis is the chronic eosinophilic inflammation of the respiratory tract theory. The dominant role in its development is played by pro-inflammatory cytokines, which are glycosylated polypeptides. They regulate and determine the nature of the immune response. The acute inflammatory response is initiated as a result of the tissue macrophages activation and secretion of inflammatory cytokines, including tumor necrosis factor – α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) and interleukin-6 (IL-6), which are the reasons of many local and systemic changes obtained during the acute inflammatory response activation. The course and intensity of the inflammatory response is controlled by several cytokines. IL-1 subtype provides an appropriate protective response in case of the pathogenic factors acting. The features of providing an inflammatory infection with cytokine are very actual subject of scientific research.

According to modern ideas, there are some significant changes of maintaining homeostasis mechanisms – a system of lipid peroxidation – antioxidant protection and balance of cytokines during the bronchopulmonary diseases in the respiratory tract. Nowadays, experimentalists and clinicians have attracted the attention with their researches. They are concerning to the influence of medicine that has immune and antioxidant properties. So the research of thiotriazoline influence on the treatment of experimental asthma and on the indicators and cytokine status should be provided.

The aim of our research was to determine the character of the disturbances content level of pro-inflammatory interleukin-6, tumor necrosis factor- α and anti-inflammatory cytokine interleukin-10 (IL-10) in the serum of guinea pigs and estimation of thiotriazoline influence on the cytokine profile in the conditions of formation of experimental bronchial asthma.

Materials and methods. Researches were conducted on guinea pigs, divided into six groups: I – control, II – 5th day of experiment, III – 19th day of bronchial asthma development, IV – 26th day and V – 33^d day of model process, VI- guinea-pigs with BA on 33 days after treatment with thiotriazoline which was administered intramuscularly at a dose of 100 mg weight for 10 days. Experimental model of bronchial asthma was restored on guinea-pigs by the V. I. Babych method (1979). Euthanasia of animals was carried out by the way of decapitation followed the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1985). The IL-6, IL-10 and TNF- α concentration in the blood serum was defined for all groups of guinea-pigs. It was made using hard-phase immune-enzyme analysis (ELISA), by means of the test-system “Diaclone” (France). Numerical results were adapted with static method using Student's criteria.

Results and discussion. At the study of the system of cytokines it was set at experimental BA, that in all probed days of experiment the reliable changes of concentration of both pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines took place in comparing to the group of intact animals. The increasing of pro-inflammatory activity of cytokines is set, at the same time, decreasing of anti-inflammatory IL-10. The introduction of thiotriazoline result in the decreasing of IL-6 on 43, 7% ($p \leq 0,05$), TNF- α on 41,9% ($p \leq 0,05$) and substantial increasing of IL-10 on 86,1% ($p \leq 0,05$) in as compared to the group of animals which was not added influence of this preparation.

Conclusions. It has been determined significant advantage of pro-inflammatory cytokine activity, which increasing according the development of the pathological process and, simultaneously, reducing the anti-inflammatory IL-10. It has been detected corrective action of thiotriazoline on the investigated indices of cytokine profile.

Key words: bronchial asthma, cytokines, thiotriazoline.

*Рецензент – проф. Костенко В. О.
Стаття надійшла 18. 04. 2014 р.*