

БІОФЛАВОНОЇДИ ТА ІМУНОРЕГУЛЯТОРНІ ЗМІНИ У ХВОРИХ НА СИСТЕМНІ АУТОІМУННІ ЗАХВОРЮВАННЯ

ГАЙДУЧОК І.Г.², ЛІЩУК-ЯКИМОВИЧ Х.О.¹

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького¹

Львівський медичний інститут², м. Львів

Вступ. Біофлавоноїди – група речовин рослинного походження з широким спектром біологічної активності. Найбільш відомі біофлавоноїди: рутин, кверцетин, гесперидин і катехін [1]. Серед них особливої уваги заслуговує кверцетин, а саме його водорозчинна форма – корвітин для парентеральних ін'єкцій, розроблений українськими вченими. Він володіє потужною антиоксидантною дією, що реактивує сульфгідрильні сполуки, вітамін С, глутатіон і токоферолі, попереджує перехід адреналіну в токсичний адренохром [2, 3]. Кверцетин перешкоджає пошкодуючій дії вільних радикалів, гальмує процеси перекисного окислення ліпідів клітинних мембран і ліпопротеїнів сироватки крові, покращує внутрішньотканинне дихання [4, 5]. Крім того, цей флавоноїд є природним інгібітором гіалуронідази – ферменту, який впливає на проникність судинної стінки і ламкість капілярів, покращує мікроциркуляцію [6, 7, 8]. Вплив його на рецепторний апарат тромбоцитів призводить до зниження активності тромбоксанів та зменшення тромбогенного потенціалу кров'яних пластинок [9, 10].

Результати експериментальних і ряду клінічних досліджень вказують на перспективу використання для стабілізації клітинної активності і зменшення ішемічної травми тканин та впливу на імунозалежні процеси кверцетину в клінічній практиці [2, 10, 11, 12]. Усе вище вказане обґрунтовує доцільність застосування корвітину у лікуванні саме системних аутоімунних захворювань сполучної тканини (САЗСТ), розповсюдження яких в останній час зростає з тяжкими пошкодженнями внутрішніх органів, початком хвороб у дитячому та молодому віці, ранньою інвалідизацією і непрацездатністю людей молодого та середнього віку [13, 14, 15, 16, 17, 18]. Морфологічною основою зазначеної патології є системна дезорганізація імунної системи та сполучної тканини. У патогенезі САЗСТ суттєве місце належить аутоімунним процесам, що характеризуються системними судинними ураженнями, рецидивуючим та прогресуючим характером перебігу на тлі генетичної недосконалості імунорегуляторних механізмів [19, 20]. Сучасне розуміння ключової ролі імунного та аутоімунного запалення при САЗСТ та їх усклад-

нень дає підстави для додаткового включення антиоксидантів з імуномодуючими властивостями до схеми лікування цих хвороб і розглядається як терапія супроводу.

Залишається невивченою можливість впливу корвітину в поєднанні з базовою терапією, на різні ланки імунної системи у хворих на САЗСТ, що робить актуальними і перспективними дослідження в цьому напрямку.

Мета дослідження полягає в оцінці стану показників імунної системи у хворих на системні аутоімунні захворювання сполучної тканини, які отримували корвітин у комплексній схемі лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 54 хворих на системні захворювання сполучної тканини, віком 21-67 років (34 жінки та 20 чоловіків). Для підтвердження основного діагнозу (САЗСТ) хворим проводились клінічні, загально-лабораторні, імунологічні та інструментальні дослідження, на основі результатів яких, згідно міжнародних та вітчизняних критеріїв діагностики з використанням міжнародних протоколів, були діагностовані наступні САЗСТ: ревматоїдний артрит [10], системний червоний вовчак [3], системні васкуліти [21].

Під час проведення дослідження всі пацієнти отримували базову терапію (цитостатики) та протизапальну (глюкокортикоїди – ГК). Контрольну групу склали 30 пацієнтів, які отримували лише базову терапію з ГК. Пацієнти дослідної групи (24 хворих), крім основної терапії, отримували препарат Корвітин в дозі 50 мг на 50 мл ізотонічного розчину хлористого натрію внутрішньовенно крапельно, через день, №10. Курс лікування – 20 днів. Крім того, у дослідженні брали участь 20 практично здорових осіб, відповідного віку та статі.

Визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові проводили за допомогою методу преципітації в поліетиленгліколі-6000 [22]. Комплементарну активність сироватки крові (КАСК) визначали за методом 50% гемолізу еритроцитів [23]. Фагоцитарну активність нейтрофілів та моноцитів (поглинальна здатність: спонтанна і стимульована; здатність до процесінгу: спонтанна, фізіологічна, хімічно

сильна і слабка) визначали цитофлюориметричним методом [24] на проточному цитофлюориметрі FACS Calibur ("Becton Dickinson", USA). Популяційний і субпопуляційний склад лімфоцитів визначали імунофлюорисцентним методом [23] за допомогою проточного цитофлюориметра FACS Calibur ("Becton Dickinson", USA) з використанням програмного забезпечення Multi SET.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили із застосуванням загальноприйнятих методів варіаційної статистики за допомогою статистичного пакету прикладних програм "Microsoft Office Excel-2011" і "Statistica for Windows". Для оцінки достовірності відмінностей виборок використовували непараметричний метод за критерієм Wilcoxon. За мінімальний поріг вірогідності приймали значення $p < 0,05$ [25, 26].

Результати. Важливою ланкою природженого гуморального імунітету є комплементарна активність сироватки крові, що відображає стан натуральних проінфекційних, імунозапальних, аутоімунних процесів тощо, а прозапальних та судинних процесів – рівень ЦІК у сироватці крові хворих. В таблиці 1 вказані результати загальної комплементарної активності та рівня циркулюючих імунних комплексів сироватки крові здо-

рових осіб, хворих на САЗСТ із застосуванням базової, глюкокортикоїдної терапії та корвітину в комплексній схемі лікування.

Виявлено, що у хворих контрольної (базова терапія) та дослідної (базова терапія + корвітин) групи до лікування рівень КАСК був знижений, порівняно зі здоровими ($p < 0,05$), що видно із таблиці 1. Після проведеного базового лікування він мав лише тенденцію до стабілізації у хворих, яким застосовували базову терапію (здорові – $56,8 \pm 3,42 \text{ CH}_{50}$, після лікування – $52,1 \pm 3,52 \text{ CH}_{50}$; $p > 0,05$). Включення корвітину в комплексну схему лікування призвело до більш вираженого підвищення активності КАСК у хворих (до лікування – $46,3 \pm 2,89 \text{ CH}_{50}$, після лікування – $58,6 \pm 4,04 \text{ CH}_{50}$; $p < 0,05$).

Дослідження рівня ЦІК у здорових та хворих на СЗСТ, контрольної та дослідної груп, показало, що концентрація ЦІК у групах хворих підвищена, порівняно із здоровими ($p < 0,05$) (табл. 1). Після проведеного лікування цей показник зменшився у хворих двох груп, при чому особливо у хворих, які приймали корвітин (до лікування – $6,01 \pm 0,48 \text{ г/л}$, після лікування – $4,2 \pm 0,45 \text{ г/л}$; $p < 0,05$). Варто зазначити, що це зниження рівня ЦІК у дослідній групі вірогідно відрізнялось від контрольної: $4,20 \pm 0,45 \text{ г/л}$ – $5,70 \pm 0,22 \text{ г/л}$ ($p < 0,05$).

Таблиця 1

Показники загальної комплементарної активності сироватки крові та рівня циркулюючих імунних комплексів у хворих на системні захворювання сполучної тканини, які у комплексній схемі лікування отримували корвітин (M ± m)

| Показники | Здорові (n = 20) | Контрольна група: базова терапія (n = 30) | | Дослідна група: базова терапія + корвітин n = 24) | |
|--------------------------|------------------|---|-----------------|---|---------------------------|
| | | до лікування | після лікування | до лікування | після лікування |
| КАСК (CH ₅₀) | 56,8 ± 3,42 | 48,1 ± 4,02° | 52,1 ± 3,52 | 46,3 ± 2,89° | 58,6 ± 4,04* |
| ЦІК (г/л) | 4,07 ± 0,83 | 6,51 ± 0,85° | 5,70 ± 0,22° | 6,01 ± 0,48° | 4,20 ± 0,45* ^v |

Примітка: ° – вірогідність різниці показників здорових осіб та хворих контрольної і дослідної групи до та після лікування ($p < 0,05$);

* – вірогідність різниці показників хворих у межах однієї групи до та після лікування ($p < 0,05$);

^v – вірогідність різниці показників хворих контрольної і дослідної групи до та після лікування ($p < 0,05$).

Отже, включення корвітину в базову та глюкокортикоїдну терапію хворих на ЗАЗСТ призводить до збільшення загальної комплементарної активності сироватки крові та особливо зменшення концентрації ЦІК у цих хворих.

Активність фагоцитозу, його потенційні можливості, а також оксидантна функція фагоцитів і їх резервна здатність у здорових осіб та хворих на САЗСТ за умов різних видів лікування вказані в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, при дослідженні активності фагоцитозу у хворих на САЗСТ спонтанна та стимульована захоплююча здатність фагоцитів (нейтрофілів та моноцитів) у хворих до по-

чатку лікування була меншою, порівняно зі здоровими особами ($p < 0,05$). Після проведеного лікування у хворих контрольної групи спонтанна поглинальна здатність нейтрофілів та моноцитів незначно підвищилась, проте залишалася стабільно зниженою ($p > 0,05$), до речі, спонтанна фагоцитарна активність – так само у дослідній групі. Індукована поглинальна здатність фагоцитів у дослідній групі хворих підвищилась, особливо нейтрофілів і не відрізнялась від норми (здорові – $93,5 \pm 6,61\%$; до лікування – $71,2 \pm 5,81\%$; після лікування – $88,2 \pm 4,76\%$, $p < 0,05$); а моноцитів меншою мірою зросла, але не нормалізувалась (здорові – $80,6 \pm 6,33\%$; до лі-

кування – $65,1 \pm 2,34\%$; після лікування – $73,4 \pm 4,76\%$; $p < 0,05$), так і моноцитів ($65,1 \pm 2,34\%$ – $73,4 \pm 2,62\%$; $p < 0,05$). Важливо, що захоплюючий потенціал, як нейтрофілів ($71,2 \pm 5,81\%$ – $88,2 \pm 4,76\%$; $p < 0,05$) дослідної групи наростає, у порівнянні з контрольною.

Таблиця 2

Показники фагоцитарної та оксидантної активності нейтрофілів і моноцитів у здорових та хворих на системні аутоімунні захворювання сполучної тканини, які у комплексній схемі лікування отримували корвітин (M ± m)

| Показники | | Здорові (n = 20) | Контрольна група: базова терапія (n = 30) | | Дослідна група: базова терапія + корвітин (n = 24) | |
|-------------------------|----------|------------------|---|-----------------------|--|-------------------------|
| | | | до лікування | після лікування | до лікування | після лікування |
| Фаготест, % нейтрофіли | спонтан. | $5,54 \pm 0,12$ | $3,83 \pm 0,88^\circ$ | $4,23 \pm 0,93^\circ$ | $3,92 \pm 0,68^\circ$ | $4,52 \pm 1,33^\circ$ |
| | індуков. | $93,5 \pm 6,61$ | $68,2 \pm 5,87^\circ$ | $71,2 \pm 6,56^\circ$ | $71,2 \pm 5,81^\circ$ | $88,2 \pm 4,76^{*\vee}$ |
| Фаготест, % моноцити | спонтан. | $8,23 \pm 7,61$ | $6,82 \pm 2,49^\circ$ | $7,2 \pm 1,89^\circ$ | $6,92 \pm 2,23^\circ$ | $7,43 \pm 2,12^\circ$ |
| | індуков. | $80,6 \pm 6,33$ | $63,1 \pm 4,75^\circ$ | $65,4 \pm 5,22^\circ$ | $65,1 \pm 2,34^\circ$ | $73,4 \pm 2,62^{*\vee}$ |
| Фагобурст, % нейтрофіли | WS | $7,14 \pm 1,21$ | $16,2 \pm 1,82^\circ$ | $10,5 \pm 2,96^{**}$ | $16,6 \pm 3,21^\circ$ | $6,82 \pm 1,68^{*\vee}$ |
| | E.coli | $91,5 \pm 5,51$ | $88,4 \pm 5,02$ | $76,2 \pm 4,47^\circ$ | $84,4 \pm 3,01$ | $84,2 \pm 2,87$ |
| | Fmlp | $8,83 \pm 2,7$ | $17,4 \pm 4,31^\circ$ | $12,3 \pm 3,94$ | $17,1 \pm 3,51^\circ$ | $7,53 \pm 1,85^{*\vee}$ |
| | PMA | $92,9 \pm 10,61$ | $68,6 \pm 2,27^\circ$ | $62,2 \pm 2,83^\circ$ | $70,6 \pm 2,45^\circ$ | $73,2 \pm 3,93^\vee$ |
| Фагобурст, % моноцити | WS | $4,92 \pm 1,54$ | $4,33 \pm 1,84$ | $3,62 \pm 1,91$ | $4,02 \pm 1,87$ | $3,42 \pm 1,99$ |
| | E.coli | $68,7 \pm 5,32$ | $51,4 \pm 5,56^\circ$ | $46,2 \pm 4,18^\circ$ | $53,4 \pm 2,86^\circ$ | $58,2 \pm 2,45^{*\vee}$ |
| | Fmlp | $8,21 \pm 2,81$ | $7,42 \pm 1,52$ | $6,63 \pm 1,98$ | $7,13 \pm 1,47$ | $8,56 \pm 0,91$ |
| | PMA | $88,2 \pm 6,29$ | $57,2 \pm 5,87^\circ$ | $49,2 \pm 4,37^\circ$ | $58,2 \pm 5,97^\circ$ | $79,2 \pm 6,37^{*\vee}$ |

Примітка: $^\circ$ – вірогідність різниці показників здорових осіб та хворих контрольної і дослідної групи до та після лікування ($^\circ$ – $p < 0,05$);

* – вірогідність різниці показників хворих у межах однієї групи до та після лікування (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$);

$^\vee$ – вірогідність різниці показників хворих контрольної і дослідної групи до та після лікування ($^\vee$ – $p < 0,05$; $^{*\vee}$ – $p < 0,01$).

Аналіз показників фагобурст-тесту нейтрофілів у хворих на САЗСТ показав, що у них значно підвищена спонтанна оксидантна стимуляція нейтрофілів, порівняно із здоровими особами ($p < 0,05$). Після проведеного лікування її показник значно зменшився, особливо у хворих, які отримували корвітин у комплексі з базовою терапією (здорові – $7,14 \pm 1,24\%$, до лікування – $16,6 \pm 3,21\%$; після лікування – $6,82 \pm 1,68\%$, $p < 0,01$) та наблизився до рівня здорових і вірогідно був вищим, у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$), що видно з таблиці 2. Фізіологічна стимуляція (*E.coli*) нейтрофілів у хворих контрольної і дослідної групи до лікування була зменшена, проте недостовірно, порівняно із здоровими ($p > 0,05$). У хворих, які отримували тільки базову терапію, її показники вірогідно зменшились, порівняно із здоровими особами (здорові – $91,5 \pm 5,51\%$, після лікування – $76,2 \pm 4,47\%$, $p < 0,05$). Застосування корвітину у базовій терапії не впливало на фізіологічну стимуляцію нейтрофілів.

При використанні слабого стимулятора fMLP у хворих дослідної групи окисна активність нейтрофілів виражено стабілізувалась після лікування і відрізнялась від дослідної групи ($p < 0,05$). Так, комплексне лікування цих хворих

корвітином призвело до значного зменшення цього показника (до лікування – $17,1 \pm 3,51\%$; після лікування – $7,53 \pm 1,85\%$, $p < 0,01$).

Застосування сильного стимулятора PMA позначилось на зниженні оксидантної активності нейтрофілів хворих, порівняно із здоровими ($p < 0,05$). У хворих, яким застосовували тільки базову терапію, не виявлено вірогідних змін активності нейтрофілів після лікування. При включенні корвітину у базову терапію хворих активність нейтрофілів зросла (до лікування – $70,6 \pm 2,45\%$; після лікування – $73,2 \pm 3,93\%$, $p < 0,05$), але не нормалізувалась ($p < 0,05$), хоча відрізнялась від контрольної групи ($p < 0,05$).

Моноцити хворих на САЗСТ меншою мірою реагували на лікування хворих, як і нейтрофіли, про що свідчать результати фагобурст-тесту, що видно із таблиці 2. Так, показники спонтанної оксидантної стимуляції моноцитів у хворих контрольної і дослідної групи достовірно не відрізнялись від таких у здорових. Після проведеного лікування у всіх хворих спостерігалось зменшення спонтанної стимуляції моноцитів, проте недостовірно.

Фізіологічна стимуляція моноцитів у хворих двох груп була зменшена, порівняно із здоровими ($p < 0,05$). У хворих, які отримували тільки ба-

зову терапію, вона продовжувала спадати, але без достовірності (здорові – $68,7 \pm 5,32\%$; до лікування – $51,4 \pm 3,56\%$; після лікування – $40,2 \pm 4,18\%$, $p < 0,05$). Застосування корвітину у базовій терапії хворих позначилось на збільшенні фізіологічної оксидантної активності моноцитів (до лікування – $53,4 \pm 2,86\%$; після лікування – $59,2 \pm 2,45\%$, $p < 0,05$), що значно відрізняло її від контрольної групи ($p < 0,01$).

Слабка стимуляція моноцитів у хворих на САЗСТ не призвела до достовірних змін їх активності, лише в групі з корвітином спостерігалась тенденція до збільшення цього показника ($p > 0,05$). Під впливом сильного стимулятора активність моноцитів у хворих контрольної групи і далі зменшувалась, порівняно зі здоровими ($p < 0,05$). Застосування базової терапії супроводжувалось подальшим спаданням активності моноцитів (до лікування – $57,2 \pm 4,87\%$; після лікування – $49,2 \pm 3,37\%$, $p < 0,05$), у той же час у дослідній групі оксидантна активність моноцитів при сильній стимуляції збільшилась (до лікування – $58,2 \pm 5,97\%$; після лікування – $70,2$

$\pm 6,37\%$, $p < 0,05$), що звичайно відрізняло цей показник після лікування контрольної групи ($p < 0,01$).

Отже, застосування корвітину з базовою та глюкокортикоїдною терапією хворих на САЗСТ призводить до стабілізації фагоцитозу, а саме: підвищується індукована поглинальна здатність нейтрофілів та частково моноцитів; зменшується спонтанна та слабо стимульована оксидантна активність нейтрофілів; збільшується фізіологічна та сильна стимуляція оксидантної активності моноцитів. Така комбінована терапія активізує стимульований фагоцитоз нейтрофілів та моноцитів, зменшує спонтанну та слабо активовану оксидантну активність нейтрофілів і протилежно від базової терапії активує фізіологічну та сильно стимульовану оксидантну активність моноцитів, забезпечуючи тенденцію до їх нормалізації.

У таблиці 3 вказано дослідження популяційного і субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих на системні аутоімунні захворювання сполучної тканини за умов різних видів лікування та у здорових осіб.

Таблиця 3

Показники популяційного і субпопуляційного складу лімфоцитів у здорових осіб та хворих на системні аутоімунні захворювання сполучної тканини, які у комплексній схемі лікування отримували корвітин ($M \pm m$)

| Показники | Одиниця виміру | Здорові | Контрольна група: базова терапія (n = 30) | | Дослідна група: базова терапія + корвітин (n = 24) | |
|-------------|----------------|-----------------|--|-----------------------|---|-----------------------|
| | | | до лікування | після лікування | до лікування | після лікування |
| Лейкоцити | Г/л | $6,31 \pm 0,43$ | $9,02 \pm 1,21^\circ$ | $5,73 \pm 0,92^{***}$ | $9,22 \pm 1,88^\circ$ | $6,92 \pm 0,75^*$ |
| Лімфоцити: | % | $29,5 \pm 3,54$ | $28,3 \pm 2,23^\circ$ | $20,1 \pm 2,42^{**}$ | $28,1 \pm 2,77$ | $26,9 \pm 1,15^\circ$ |
| CD3+ | % | $71,4 \pm 5,93$ | $69,1 \pm 4,37$ | $56,2 \pm 4,23^{**}$ | $67,8 \pm 5,18$ | $59,9 \pm 4,53^\circ$ |
| CD3+/4+ | % | $26,1 \pm 3,82$ | $35,02 \pm 2,97^\circ$ | $20,6 \pm 2,45^{**}$ | $34,1 \pm 2,85^\circ$ | $28,2 \pm 2,54^{*v}$ |
| CD3+/8+ | % | $17,5 \pm 3,45$ | $17,3 \pm 2,08$ | $13,2 \pm 2,88^*$ | $17,4 \pm 2,66$ | $20,5 \pm 2,41$ |
| CD4+/25+ | % | $15,1 \pm 2,17$ | $10,3 \pm 1,23^\circ$ | $8,41 \pm 1,18^\circ$ | $9,82 \pm 0,82^\circ$ | $12,4 \pm 1,22^{*v}$ |
| CD16+/56+ | % | $17,5 \pm 2,01$ | $14,3 \pm 2,08$ | $8,24 \pm 2,88^*$ | $14,1 \pm 2,66$ | $15,7 \pm 2,41$ |
| CD19+ | % | $22,1 \pm 2,09$ | $22,3 \pm 2,18$ | $15,9 \pm 2,13^{**}$ | $21,8 \pm 2,22$ | $20,7 \pm 2,11$ |
| CD25+ | % | $14,9 \pm 3,29$ | $22,7 \pm 2,34^\circ$ | $12,1 \pm 3,15^*$ | $20,5 \pm 1,92^\circ$ | $15,1 \pm 3,71$ |
| CD3+/HLA-DR | % | $14,5 \pm 1,36$ | $19,1 \pm 1,75^\circ$ | $10,7 \pm 0,97^{**}$ | $18,9 \pm 2,29^\circ$ | $17,9 \pm 1,56^v$ |

Примітка: $^\circ$ – вірогідність різниці показників здорових осіб та хворих контрольної і дослідної групи до та після лікування ($p < 0,05$);

* – вірогідність різниці показників хворих у межах однієї групи до та після лікування ($p < 0,05$);

v – вірогідність різниці показників хворих контрольної і дослідної групи до та після лікування ($p < 0,05$).

Як видно з таблиці 3, кількість лейкоцитів у хворих на САЗСТ підвищена, порівняно із здоровими ($p < 0,05$). Після лікування їх число зменшилось у хворих контрольної групи, яким застосовували базову терапію (до лікування – $9,02 \pm 1,21$ Г/л; після лікування – $5,73 \pm 0,42$ Г/л $p < 0,01$). При цьому не було встановлено достовірних змін цих значень у хворих, які отримували корвітин на тлі базової терапії. Кількість лімфоцитів у хворих, яким застосовували тільки базову терапію, зменшилась (до лікування – $26,3 \pm$

$2,23\%$; після лікування – $20,1 \pm 2,42\%$, $p < 0,05$). Відповідні показники пацієнтів, які приймали корвітин, вірогідно не змінювалися. У хворих контрольної і дослідної групи число CD3+ лімфоцитів зменшилось, порівняно із здоровими, проте без вірогідної різниці. Після лікування спостерігалось і далі зменшення їх кількості, особливо у хворих, які отримували тільки базову терапію (до лікування – $69,3 \pm 4,37\%$; після лікування – $56,2 \pm 4,23\%$, $p < 0,05$), та менше у тих, які приймали корвітин (до лікування – $67,8 \pm 5,18\%$;

після лікування – $59,9 \pm 4,53\%$, $p < 0,05$). Кількість Т-хелперів у хворих двох груп підвищена, порівняно зі здоровими ($p < 0,05$). Після лікування спостерігається тенденція до нормалізації їх рівня, найбільше у хворих, для лікування яких застосували корвітин (здорові – $26,1 \pm 3,82\%$; до лікування – $34,1 \pm 2,85\%$; після лікування – $26,2 \pm 2,54\%$, $p < 0,05$). Число Т-цитотоксичних лімфоцитів у хворих контрольної та дослідної груп вірогідно не змінювалося, хоча у хворих, які отримували базову терапію, їх кількість зменшилась (до лікування – $17,3 \pm 2,08\%$; після лікування – $13,2 \pm 2,88\%$, $p < 0,05$), що не спостерігалось при застосуванні корвітину.

Спостерігається зменшення кількості регуляторних $CD4^+/25^+$ -лімфоцитів у хворих двох груп, порівняно із здоровими ($p < 0,05$). Застосування базової терапії призвело до подальшого зниження їх числа (до лікування – $10,3 \pm 1,23\%$; після лікування – $8,4 \pm 1,18\%$, $p > 0,05$). Навпаки, у хворих, які приймали корвітин, виявлена нормалізація їх кількості (здорові – $15,1 \pm 1,17\%$; до лікування – $9,82 \pm 0,82\%$; після лікування – $12,4 \pm 1,22\%$, $p < 0,05$). У хворих контрольної і дослідної групи число NK-клітин ($CD16^+/56^+$) і В-лімфоцитів ($CD19^+$) вірогідно не змінювалося, порівняно із здоровими. Після отримання базової терапії їх кількість зменшилась (NK-клітини: до лікування – $14,3 \pm 2,08\%$; після лікування – $8,24 \pm 2,88\%$, $p < 0,05$; В-лімфоцити: до лікування – $22,3 \pm 2,18\%$; після лікування – $15,9 \pm 2,13\%$, $p < 0,05$). Не виявлено вірогідних змін кількості NK-клітин і В-лімфоцитів після лікування у хворих, які приймали корвітин. Що стосується активованих В-лімфоцитів ($CD25^+$), то їх кількість у двох групах хворих перевищувала таку у здорових ($p < 0,05$). Після проведеного лікування спостерігалась тенденція до нормалізації кількості цих клітин тільки у хворих, яким застосовували базову терапію (здорові – $14,9 \pm 3,29\%$; до лікування – $22,7 \pm 2,34\%$; після лікування – $12,1 \pm 3,15\%$, $p < 0,05$).

Кількість активованих Т-лімфоцитів ($CD3^+/HLA-DR^+$) досліджуваних хворих, порівняно із здоровими, вірогідно була вищою. У хворих, які отримували базову терапію, число $CD3^+/HLA-DR^+$ -лімфоцитів зменшилось (до лікування – $17,1 \pm 1,75\%$; після лікування – $10,7 \pm 0,97\%$, $p < 0,05$). Застосування корвітину не позначилось на вірогідній зміні кількості цих клітин.

Обговорення

Результати досліджень показали, що у хворих на САЗСТ, які одержували корвітин у поєднанні з базовою терапією, спостерігається нормалізація кількості лейкоцитів, Т-хелперів, регуляторних $CD4^+/25^+$ -лімфоцитів. У той же час комплексне лікування цих хворих виражено не знижувало кількість лімфоцитів при ранній та пізній їх активації, піднімало кількість регуля-

торних клітин, у порівнянні з хворими контрольної групи, у яких число всіх цих клітин виражено знижувалось.

Враховуючи зростання захворюваності на САЗСТ за останні роки і необхідність попередження серйозних судинних, вісцеральних ускладнень, особливо актуальною є проблема ефективної та безпечної терапії цих хворих. Добре відома доказовість глюкокортикоїдної та імуносупресивної терапії САЗСТ, але у зв'язку із збільшенням кількості імунозалежних ускладнень та формуванням імунодефіцитних порушень в результаті тривалої базової терапії, актуальним лишається питання застосування у цих хворих терапії супроводу [13]. Як відомо, взаємодія системи комплементу з гуморальними компонентами імунної системи, які активуються при запальних процесах при САЗСТ, сприяє залученню цих факторів до імунного запалення [13]. Відкладання компонентів комплементу в складі імунних комплексів на клітинних мембранах ініціює розвиток імунопатології в результаті залучення в патологічний порінок макрофагів, нейторофілів та інших ефektorів імунного запалення [20].

Власне корвітин і став тим препаратом вибору, який володіє здатністю інгібувати перекисне окиснення ліпідів [5, 9], підвищувати рівень оксиду азоту (NO) у тканинах [27, 28, 29], саме порушення синтезу якого та розвиток внутрішньоклітинного оксидативного стресу [4, 30] лежать в основі розвитку хронічного гіперімунокомплексного та гіпокомплемтарного синдромів, що супроводжують САЗСТ [31]. Крім цього цей препарат володіє протизапальними [21, 32, 33] та вазопротективними властивостями [6]. Саме включення корвітину в базову та глюкокортикоїдну терапію хворих на САЗСТ зумовило збільшення загальної комплементарної активності сироватки крові у 1,5 разів ($P < 0,05$), зменшення концентрації ЦІК у 1,4 разів ($P < 0,05$) у цих хворих, у порівнянні з пацієнтами, які отримували лише базову терапію при проведенні нашого дослідження.

Нами було встановлено також, що застосування корвітину з базовою та глюкокортикоїдною терапією хворих на САЗСТ призводить до стабілізації фагоцитозу, а саме: підвищується індукована поглинальна здатність нейтрофілів та частково моноцитів; зменшується спонтанна та слабо стимульована оксидантна активність нейтрофілів; збільшується фізіологічна та сильна стимуляція оксидантної активності моноцитів. Більш активно на застосування корвітину реагували нейтрофільні гранулоцити шляхом індукції поглинальної здатності, та стабілізації спонтанної та слабостимульованої кілінгової активності цих клітин, що може вказувати на посилення протиінфекційного захисту [20]. Ві-

рогідне посилення поглинальної та перетравлюючої здатності моноцитів (особливо фізіологічної та сильностимульованої резервної) може вказувати на індукцію резервних можливостей процесінгу, активізацію елімінації аутоагресивних клітин та попередження аутолізу, вторинного некролізу, які можуть стати причинами деструктивних процесів та можливого розвитку васкулопатій [17].

Застосування корвітину у хворих на вторинні васкуліти, за умов САЗСТ сприяло стабілізації кілінгової активності фагоцитів, що, в свою чергу, попереджує формування васкулопатій при цій патології. Ці процеси є сприятливим фактором попередження подальшого формування гіперімунотоксичного та гіпокомплементарного синдромів, тому корекція нейтрофілозалежних та моноцитарнозалежних процесів за допомогою корвітину може бути перспективною у лікуванні цих синдромів, які супроводжують САЗСТ [31].

Цікавими виявилися результати досліджень фенотипування лімфоцитів у хворих на САЗСТ, які одержували корвітин у поєднанні з базовою терапією. Так, було встановлено нормалізацію Т-хелперів, регуляторних CD4⁺/25⁺-лімфоцитів. У той же час комплексне лікування цих хворих виражено не знижувало кількість лімфоцитів при ранній та пізній їх активації, піднімало кількість регуляторних клітин, у порівнянні з хворими контрольної групи, у яких число всіх цих клітин виражено знижувалось. Це може бути перспективним профілактичним чинником в розвитку постмедикаментозного імунodefіцитного порушення у хворих на САЗСТ, які тривало отримують базову терапію [13]. Такі порушення ведуть до активації опортуністичних, умовнопатогенних інфекцій, які ускладнюють перебіг основного захворювання і можуть бути причиною смертності при САЗСТ [20].

ВИСНОВКИ

1. Застосування корвітину в поєднанні з базовою терапією хворих на системні аутоімунні захворювання сполучної тканини призводить до збільшення загальної комплементарної активності сироватки крові у 1,5 разів ($p < 0,05$), зменшення концентрації ЦІК у 1,4 разів ($p < 0,05$).
2. У обстежених хворих на системні захворювання сполучної тканини включення корвітину у комплексну терапію цих хворих активує стимульований фагоцитоз нейтрофілів та моноцитів ($p < 0,05$), виражено зменшує спонтанну ($p < 0,01$) та слабо активовану оксидантну активність нейтрофілів ($p < 0,01$), і протилежно від базової терапії активує фізіологічну ($p < 0,05$) та сильно стимульовану оксидантну активність моноцитів ($p < 0,05$).

3. У хворих на системні захворювання сполучної тканини, які одержували корвітин у поєднанні з базовою терапією, спостерігається зниження кількості Т-хелперів ($p < 0,05$), підвищення кількості регуляторних CD4⁺/25⁺-лімфоцитів ($p < 0,05$), стабілізація активізаційних маркерів на лімфоцитах, що сприяє зменшенню активності аутоагресії та посиленню протиінфекційного імунного захисту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин, Ж. А. Абилов, Р. А. Музычкина, Г. А. Толстиков. – Новосибирск: Тео, 2007. – 232 с.
2. Билык О. В. Биофлавоноид кверцетин и перспективы его использования в медицине / О. В. Билык, В. К. Рыбальченко, Б. П. Романюк // Загал. патологія та пат. фізіологія. – 2007. – № 1. – С. 4–9.
3. Флавоноїд кверцетин: фармакологічні властивості та клінічне використання / М. Т. Ватутін, Т. С. Гончаренко, О. В. Склянна, С. Заххама // Ліки. – 2005. – № 3-4. – С. 19-26.
4. Effect of quercetin-loaded liposomes on induced oxidative stress in human spermatozoa / E. Moretti, L. Mazzi, C. Bonechi [et al.] // *Reprod. Toxicol.* – 2016. – Vol.60. – P. 140 – 147.
5. Yetuk G. Protective role of catechin and quercetin in sodium benzoate-induced lipid peroxidation and the antioxidant system in human erythrocytes in vitro / G. Yetuk, D. Pandir, H. Bas // *Scientific World J.* – 2014. – P. 874824.
6. Мойбенко А. А. Патогенетическое обоснование эффективности нового отечественного кардиопротектора корвитина (водорастворимого кверцетина) при остром инфаркте миокарда / А. А. Мойбенко // *Вісник фармакології та фармації.* – 2007. – № 5. – С. 38-47.
7. Effects of the pure flavonoids epicatechin and quercetin on vascular function and cardiometabolic health: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial / J. I. Dower, J. M. Geleijnse, L. Gijsbers [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2015. – Vol. 101 (5). – P. 914 – 921.
8. Gormaz J. G. Cardiovascular disease: a target for the pharmacological effects of quercetin / J. G. Gormaz, S. Quintremil, R. Rodrigo // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 15 (17). – P. 1735 – 1742.
9. Вінничук С. М. Клінічне та біохімічне обґрунтування доцільності комплексного використання Цераксону і Корвітину в лікуванні гострого ішемічного інсульту / С. М. Вінничук, М. М. Прокопів, Г. С. Трепет // *Межд. неврол. журн.* – 2011. – № 1(39). – С. 67-78.

10. Miles S. L. Molecular and physiological actions of quercetin: need for clinical trials to assess its benefits in human disease / S. L. Miles, M. McFarland, R. M. Niles // *Nutr. Rev.* – 2014. – Vol. 72 (11). – P. 720 – 734.
11. Bioavailability of quercetin: problems and promises / X. Cai, Z. Fang, J. Dou [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 20 (20). – P. 2572 – 2582.
12. D'Andrea G. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? / G. D'Andrea // *Fitoterapia.* – 2015. – Vol. 106. – P. 256 – 271.
13. Системні хвороби сполучної тканини: досвід роботи / В. В. Чоп'як, Г. О. Потьомкіна, М. Ю. Синенька [та ін.] // *Укр. ревматол. журн.* – 2009. – № 2(36). – С. 15 – 21.
14. Чоп'як В. В. Системні васкуліти / В. В. Чоп'як. – Львів, 2014. – 320 с.
15. Chakravarty Kuntal. Secondary vasculitis in autoimmune connective tissue diseases / Chakravarty Kuntal, H. Ong Voon, P. Denton Christopher // *Curr. Opin. Rheumatol.* – 2016. – Vol. 28 (1). – P.60 – 65.
16. Connective tissue disorder-associated vasculitis / A Sharma, A. Dhooria, A. Aggarwal [et al.] // *Curr. Rheumatol. Rep.* – 2016. – Vol. 18 (6). – P.31.
17. Vasculitis associated with connective tissue diseases / E. Cozzani, G. Gasparini, M. Papini [et al.] // *G. Ital. Dermatol. Venereol.* – 2015. – Vol. 150 (2). – P. 221 – 232.
18. Застосування препарату “Корвітин” у хворих з гіперімунокомплексним синдромом / В.В. Чоп'як, О.О. Мойбенко, І.В. Вальчук, С.І. Павлович: інформаційний лист №227. - Київ, 2004.
19. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник // – К.: Полиграфплюс, 2010. – 552 с.
20. Takakubo Y. Immune-regulatory mechanisms in systemic autoimmune and rheumatic diseases / Y. Takakubo, Y. T.Konttinen // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012. – P. 941346.
21. Anti-inflammatory effects and molecular mechanisms of 8-prenyl quercetin / A. Hisanaga, R Mukai., K. Sakao [et al.] // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2016. – Vol. 60 (5). – P.1020 – 1032.
22. Осипов С. Г. Методы определения иммунных комплексов / С. Г. Осипов, В. В.Еремеев, В. И. Руднев // *Лаб. дело.* – 1983. – № 11. – С. 3 – 7.
23. Колісник Н. В. Методи лабораторної імунології / Н. В. Колісник, Л. О. Омелянчик. – Запоріжжя: ЗНУ, 2010. – 116 с.
24. Соколенко В. Л. Прикладна імунологія / В. Л. Соколенко, С. В. Соколенко. – 2-е вид. – Черкаси: ЛЕМАР-ПРОМ, 2015. – 66 с.
25. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
26. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: Медиасфера, 2002. – 312 с.
27. Вальчук І. В. Процеси синтезу оксиду азоту при хронічній гіперімунокомплексії та їхні зміни під впливом кверцетину в умовах *in vitro* / І. В. Вальчук, В. В. Чоп'як, О. О. Мойбенко // *Серце і судини.* – 2006. – № 1. – С. 50 – 57.
28. NO-залежні та месенджерні процеси в нейтрофілах та ендотеліоцитах в умовах хронічної гіперімунокомплексії та вплив на них біофлавоноїду кверцетину / І.В. Вальчук, В.В. Чоп'як, С.І. Павлович [та ін.] // *Серце і судини.* – 2005. – № 4. – С.49 – 57.
29. Особливості обміну NO за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому та при застосуванні корвітину в експерименті / В.В. Чоп'як, Г.О. Потьомкіна, І.В. Вальчук [та ін.] // *Імунологія та алергологія.* – 2008. – № 3, додаток. – С.9 – 13.
30. Quercetin conjugated poly(-amino esters) nanogels for the treatment of cellular oxidative stress // P. Gupta, S. P Authimoolam, J. Z. Hilt, T. D.Dziubla // *Acta Biomater.* – 2015. – Vol. 27. – P. 194 – 204.
31. Гіперімунокомплексний синдром в експерименті та клініці / Чоп'як В. В., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г. [та ін.] // *Вісн. наук. дослідж.* – 2007. – № 1. – С. 5 – 6.
32. Ozcelic B. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids and phenolic acids / B. Ozcelic, M. Kartal, I. Orhan // *Pharm. Biol.* – 2011. – Vol. 49(4). – P. 396 – 402.
33. Quercetin, inflammation and immunity / Y. Li, J. Yao, C. Han [et al.] // *Nutrients.* – 2016. – Vol. 8 (3). – P. 167.

РЕЗЮМЕ

БИОФЛАВОНОИДЫ И ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНЫМИ АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Гайдучок І.Г.², Лишук-Якимович К.А.¹

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого¹

Львовский медицинский институт², г. Львов

На сегодняшний день активно изучается вопрос иммунологического сопровождения ревматологических больных. Остается не изученным влияние кор-

вита, в поєднанні з базовою терапією, на різних зв'язках імунної системи у хворих з системними аутоімунними захворюваннями, що робить актуальними і перспективними дослідження в цьому напрямку.

Целью дослідження було оцінити стан показників імунної системи у хворих з системними аутоімунними захворюваннями з'єднаної тканини, які отримували корвітин в комплексній схемі лікування.

Обстежено 54 хворих з даною патологією. Контрольна група складалася з 30 хворих (базова терапія), а дослідницька – з 24 хворих (базова терапія в поєднанні з корвітином). Досліджували комплементарну активність сироватки крові, рівень циркулюючих імунних комплексів, активність фагоцитозу, популяційний і субпопуляційний склад лімфоцитів до і після лікування.

У хворих з системними аутоімунними захворюваннями з'єднаної тканини, які отримували корвітин в поєднанні з базовою терапією, виявлено нормалізацію загальної комплементарної активності сироватки крові, зменшення концентрації ЦИК, стабілізацію фагоцитозу, особливо гранулоцитарних клітин, зменшення активності Т-залежної ланки імунної системи та активацію Т-регуляторних процесів, що сприяє зменшенню активності аутоагресії та посиленню протипатогенного імунного захисту.

Ключевые слова: системні аутоімунні захворювання з'єднаної тканини, стан імунної системи, корвітин.

РЕЗЮМЕ

БІОФЛАВОНІДИ ТА ІМУНОРЕГУЛЯТОРНІ ЗМІНИ У ХВОРИХ НА СИСТЕМНІ АУТОІМУННІ ЗАХВОРЮВАННЯ

Гайдучок І.Г.², Ліщук-Якимович Х.О.¹

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького¹

Львівський медичний інститут², м. Львів

На сьогоднішній день активно вивчається питання імунологічного супроводу ревматологічних хворих. Залишається невивченим вплив корвітину, в поєднанні з базовою терапією, на різні ланки імунної системи у хворих на системні аутоімунні захворювання з'єднаної тканини, що робить актуальними і перспективними дослідження в цьому напрямку.

Метою дослідження було оцінити стан показників імунної системи у хворих на системні аутоімунні захворювання з'єднаної тканини, які отримували корвітин в комплексній схемі лікування.

Обстежено 54 хворих з даною патологією. Контрольна група складалася з 30 хворих (базова терапія), а дослідницька – з 24 (базова терапія в поєднанні з кор-

вітином). Досліджували комплементарну активність сироватки крові, рівень циркулюючих імунних комплексів, активність фагоцитозу, популяційний і субпопуляційний склад лімфоцитів до та після лікування.

У хворих на системні аутоімунні захворювання з'єднаної тканини, які отримували корвітин в поєднанні з базовою терапією, виявлено нормалізацію загальної комплементарної активності сироватки крові, зменшення концентрації ЦИК, стабілізацію фагоцитозу, особливо гранулоцитарних клітин, зменшення активності Т-залежної ланки імунної системи та активацію Т-регуляторних процесів, що сприяє зменшенню активності аутоагресії та посиленню протипатогенного імунного захисту.

Ключові слова: системні аутоімунні захворювання з'єднаної тканини, стан імунної системи, корвітин.

SUMMARY

BIOFLAVONOIDS AND IMMUNOREGULATING CHANGES IN PATIENTS WITH SYSTEMIC AUTOIMMUNE DISEASES

Haiduchok I.², Lishchuk-Yakymovych K.¹

Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky¹
Lviv Medical Institute², Lviv

Nowadays is actively studied the issue of immunological support in rheumatologic patients. It remains unexplored the impact of bioflavonoids (corvitin), in combination with base therapy, on various links of the immune system in patients with systemic autoimmune connective tissue diseases because makes relevant and promising research in this direction.

The aim of the study was to evaluate the status of immune system parameters in patients with systemic autoimmune connective tissue diseases receiving corvitin in a complex therapy.

There were examined 54 patients with this pathology. The control group consisted of 30 patients (with usually baseline therapy), and experimental – 24 patients (baseline therapy in combination with corvitin). There were investigated before and after the treatment such specific immunological parameters as the complementary activity of the blood serum, the level of circulating immune complexes, phagocytosis activity, lymphocytes' population and subpopulation.

In the result of the detailed analyse in patients with systemic autoimmune connective tissue diseases received corvitin in combination with baseline therapy it was fixed the normalization of the total complementary serum activity, the decrease of the circulating immune complexes, the stabilization of phagocytosis, especially of the granulocytic cells, the decrease of the T-lymphocytes population and subpopulation activity and of the T-regulatory processes that reduce the activity of autoaggression and enhance anti-infective immune defense.

Key words: systemic autoimmune connective tissue diseases, state of the immune system, corvitin.