

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО УЛЬТРАЗВУКУ НА ВМІСТ ПРОЗАПАЛЬНИХ МЕДІАТОРІВ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ (IL-6, IL-8, TNF-a) В ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ НА ПІКУ РОЗВИТКУ КАРАГІНАНІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ

Проведено дослідження впливу низькоінтенсивного ультразвуку (НУЗ) на вміст прозапальних цитокінів (IL-6, IL-8, FNO-a) у плазмі крові на піку розвитку карагінаніндукованого запалення задньої кінцівки щурів. Відзначено достовірне зменшення показників вмісту прозапальних медіаторів гострої фази за умов впливу НУЗ, важливі ланки механізму впливу НУЗ на тканинне пошкодження запальної етіології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: низькоінтенсивний ультразвук, карагінаніндуковане запалення, цитокіни, інтерлейкіни IL-6, IL-8, TNF-a, індукція прозапальних медіаторів.

ВСТУП. Як було показано в ряді робіт [1, 3], низькоінтенсивний ультразвук (НУЗ) здатен знижувати кількість маркерних показників запалення [3]. Це дає підстави вважати, що ультразвук низької інтенсивності (до 0,5 Вт/см²) може впливати на процеси вивільнення прозапальних медіаторів із макрофагів та опасистих клітин; підвищувати секрецію медіаторів ендотеліальними клітинами. Прозапальні цитокіни (ЦК) IL-6, TNF-a, IL-1, IL-12, IFN-a, IFN-b, IFN-γ, що діють на імунокомпетентні клітини, індують запальну відповідь і, на рівні високих концентрацій, сигналізують про присутність локальних або системних патоморфологічних ознак у біологічній системі [9]. Необоротні пошкодження тканин, репараційні процеси з частковим відновленням фізіологічних функцій тканин та органів, хронізація запального процесу – прогнозовані наслідки імунопатологічного стану завищеного імунного відгуку при заниженій швидкості реакції на "свіжі антигенні надходження" [7]. Ряд авторів звертає увагу на профілактичний активуючий імуноотропний ефект НУЗ через оптимізацію взаємодії інтерлейкінів із відповідними ланками ІС, відстеживши появу прямого кореляційного зв'язку між рівнями FNO-a та циркулюючих імунних комплексів, IL-6 та лейкоцитів у крові пацієнтів із передопераційним курсовим озвученням НУЗ (Ю. М. Гринзайд, В. І. Мельни-

© В. В. Літюга, 2011.

кова, 2004; Г. В. Левченко, 2003; Н. В. Черкова, 2005; Ю. В. Бондаренко, 2010; С. В. Колюга, 2006). Доцільність застосування комплексних лікувальних методів – поєднання ультрафонофонії з фонопунктурою, послідовне озвучення НУЗ грудної клітки з УЗ-інгаляціями – у пацієнтів із дисгармонічною гострофазною відповіддю клінічно підтверджена нормалізацією показників клітинного гуморального імунітету на тлі позитивних змін системної динаміки ліпопероксидації, антиоксидантного захисту та встановлення локального балансу між протапротизапальними цитокінами (Г. Я. Ступницька, 2004; Т. А. Аскарі, 2004; Ж. В. Копітько, 2005; М. І. Канут, 2008; О. О. Рачиба, 2007).

Зважаючи на вищенаведене, метою даної роботи було визначити вміст медіаторів цитокінового профілю на піку розвитку карагінаніндукованого запалення та дослідити вплив УЗ (0,2 Вт/см²) на вміст медіаторів цитокінового профілю на піку розвитку карагінаніндукованого запалення.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Загальноприйнятою моделлю для дослідження запалення є карагінаніндукований набряк кінцівки щурів. Його друга фаза (2–6 год) характеризується виділенням простагландинів та міграцією нейтрофілів з подальшим вивільненням медіаторів запалення і виділенням реакційних кінцевих форм у вогнище запалення. Ряд дослідників

підтвердив підвищене продукування і токсичну дію реакційних кисневих форм через активацію запальної сигнальної трансдукції [1, 2].

Набряк відтворювали відповідно до методу: 0,1 мол 1 % розчину карагінану вводили в праву задню кінцівку щурів. Товщину лапки вимірювали через 1, 2, 3 год після ін'єкції. Дослідження механізмів протизапальної дії УЗ виконано на 30 білих безпородних щурах масою 180–200 г (n=6–10). Тварин було поділено на три групи: 1-ша – контрольна (інтактна); 2-га – тварини з караганіндукованим набряком; 3-тя – тварини, озвучені УЗ із караганіндукованим набряком. Щурів піддавали 10-хвилинному озвученню інтенсивністю 0,2 Вт/см² за 1 год до введення карагінану в ділянку кінцівки. Контрольну групу складали тварини, яких піддавали вдаваному озвученню. З метою вивчення якості впливу УЗ на кількість прозапальних цитокінів визначали показники вмісту IL-6, IL-8, TNF-а в трьох групах. Біохімічні показники досліджували на піку розвитку набряку – через 3 год після введення карагінану, на піку розвитку запалення. Концентрацію IL-6 IL IL-8 в сироватці крові щурів визначали методом ферментного імуносорбентного аналізу (ELISA) відповідно до стандартного протоколу Immunoassay kit IL, Biosource та вимірювали у пг/мл крові. Вміст TNF-а в плазмі крові визначали згідно з протоколом RAT TNF-а ELISA KitProtokol. Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням критерію достовірності Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Критичні стани різної етіології супроводжуються активацією взаємодії молекул медіаторів запалення з відповідними лігандами на лейкоцитах із подальшим переміщенням за хемотаксичним інгредієнтом до запального вогнища. Цитокіновий профіль прозапальної групи медіаторів складають молекули переважно локальної паракринної дії, що продукуються та елімінуються близько розташованими клітинами в короткі терміни. Біологічні УЗ-ефекти є залежними від параметрів УЗ-поля, властивостей середовища, фізіологічного та біохімічного стану самої біосистеми [1]. Сучасні дослідження складових механізму дії НУЗ експериментально підтверджують здатність енергії механічних коливань оптимізувати якість та перебіг запального процесу через скорочення термінів проліферативної і регенативної стадій та запобігання переходу гострої форми запалення в хронічну [1, 2, 9, 10]. До білків гострої фази відносять деякі компоненти системи комплексу, що беруть участь у процесах накопичення фагоцитів у вогнищі запалення та зни-

щенні патогенів. На піку розвитку запалення величини маркерних показників ЗП досягають максимальних значень. FNO-а, IL-6 є потужними стимуляторами системної реакції організму у відповідь на тканинне пошкодження. Вплив ультразвуку інтенсивністю 0,2 Вт/см² на піку розвитку запалення сприяв зниженню прозапальних медіаторів, що опосередковано гальмувало процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [3]. Здатність НУЗ впливати на перебіг запального процесу через інгібування активних форм кисню та експресію антиоксидантних ферментів залежно від фази запалення пов'язана з його модулюючим впливом на перебіг вільнорадикальних процесів та активність антиоксидантної системи [3]. Вплив ультразвуку інтенсивністю 0,2 Вт/см² достовірно зменшував кількість прозапальних медіаторів на піку розвитку запалення порівняно з групою караганіндукованого набряку з природним перебігом процесу. Вміст інтерлейкіну-6 в групі з КІЗ на піку запалення збільшувався в 2,8 раза відносно контрольної групи, тоді як у групі тварин, які зазнали впливу НУЗ, вміст IL-6 змінювався в 1,7 раза відносно контролю та був зниженим в 1,5 раза відносно групи щурів з природним перебігом процесу. Коливання показника вмісту IL-8, ймовірно за рахунок активної фази стадії нейтрофільної інфільтрації, зазнавало більш різких змін: у групі тварин із КІЗ вміст IL-8 збільшувався в 5,6 раза відносно КГ, а в групі щурів з озвученням – у 3,4 раза. Натомість при порівнянні обох груп із КІЗ відзначено достовірне зменшення показника IL-8 в 1,6 раза (рис. 1). Дослідження коливань показника вмісту TNF-а достовірно підтверджувало тенденцію до зменшення величини піку стрибка вмісту цитокіну при застосуванні НУЗ: від 14,6±1,52 в контрольній групі до 44,2±4,85 в групі із запаленням при зменшенні показника TNF-а до 26,8±3,44 в групі з КІЗ та озвученням. Тобто вплив НУЗ зменшив величину продукування монокіну на піку розвитку запалення на 38 %.

Ймовірно, ініційовані НУЗ екзоклітинні структурні зміщення в поєднанні з полегшеною дифузією субстрату полегшують діapedез – це прогнозовано підвищує варіативність хемокінезу [4, 5]. У збуреному акустичними потоками середовищі макромолекули та фрагменти ферментів “змиваються” з клітинної поверхні. Зменшення поверхневого натягу призводить до електростатичної нестійкості мембран лейкоцитів. За окреслених умов для забезпечення процесів діapedезу, хемотаксису, хемокінезу нейтрофілам потрібен буде додатковий час на зміну періодів руху й амплітуди поворотів [5].

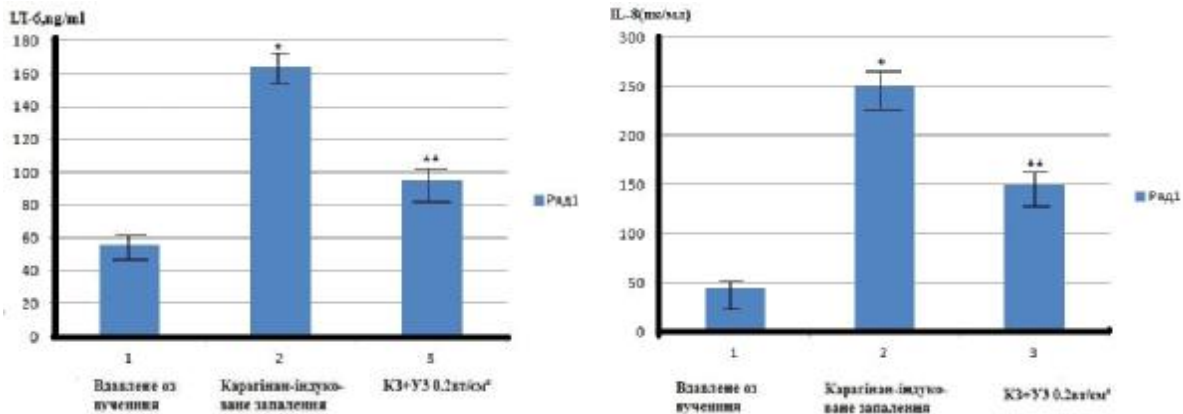


Рис. 1. Зміни вмісту IL-6 та IL-8 на піку розвитку КІЗ (2) порівняно з контрольною групою (1) та групою тварин з КІЗ, яких було піддано озвученню (3) (* – $p_1 < 0,05$ достовірна різниця відносно КГ; ** – $p_2 < 0,05$ достовірна різниця відносно групи щурів з КІЗ).

Унаслідок цього для певної кількості фагоцитуючих клітин стан респіраторного “вибуху” відтермінується, знижується кількість накопиченого надлишку продуктів ПОЛ, не виснажується система глутатионового захисту і, найголовніше, скорочується час досягнення стану бажаної рівноваги між процесами утворення та нейтралізації продуктів ПОЛ. Ймовірно, УЗ-вплив на розвиток запального піку (найбільш продуктивного для утворення АФК) реалізується через синхронізацію процесів вивільнення прозапальних медіаторів і сприяє утриманню концентрацій цитокінів на адекватному рівні. Зважаючи на твердження про провідну роль цитокінів у розвитку запалення та імунної відповіді [6, 7], можна припустити, що НУЗ здатен перешкоджати утворенню додаткових ланцюгів вільнорадикального окиснення в запальному вогнищі. Такі ланцюгові процеси з виродженими розгалуженнями здатні призвести, відповідно, до ступеня виснаження антиоксидантної системи або до клітинного апоптозу (коли клітинний вміст деградує до нетоксичних продуктів), або до некрозу клітини через пошкодження клітинної мембрани (В. Л. Воейков, 2008). В сучасних лікувальних технологіях, використовуючи НУЗ, стимулюють і прискорюють регенерацію, сприяють вивільненню прооксидантних ферментів, зменшують проліферацію, забезпечують транспорт та депонування лікарської речовини до органа-мішені або групи клітин [1]. Вказані ефекти НУЗ по-

в’язують з акустичними мікропотоками, що зміщують параметри пристінкових мікротечій, і мікротечій, який здатен впливати на топографію клітинних пор та інтенсивність клітинного метаболізму. Натомість, реакції патологічно змінених клітин, у відповідь на озвучення, залежать від набутих при запаленні патоморфологічних ознак та палітри змін функціонального стану структурних елементів розбалансованої біологічної системи. Вказані ефекти впливу НУЗ на коливання вмісту прозапальних цитокінів доцільно враховувати при розробці нових комплексних методів фонофорезу та фонопрофілактики.

ВИСНОВКИ. 1. НУЗ достовірно знижував вміст прозапальних медіаторів у плазмі крові щурів на піку розвитку запалення. Кількість IL-8 за дії НУЗ знизилась в 1,6 раза відносно групи тварин із природним перебігом процесу запалення, кількість IL-6 – в 1,6 раза відносно групи щурів з КІЗ. Найменш чутливим до впливу НУЗ був FNO-a, вміст якого за умови озвучення зменшився на 38 %.

2. Вищевказаний вплив НУЗ може бути зумовленим: у IL-8 – впливом НУЗ на діapedез та варіативність хемокінезу; в FNO-a – максимумом значень вмісту на стадії репарації пошкоджень, інгібуванням високими значеннями вмісту IL-6; у IL-6 – плейотропністю медіатора та ініційованою НУЗ синхронізацією процесів регуляції клітинного метаболізму.

3. Вплив ультразвуку на вільнорадикальне окиснення в скелетних м’язах при їх травмуванні / П. М. Чорноморець, Н. Є. Нурищенко, М. С. Мірошніченко, А. В. Клепко // Фізика живого. – 2007. – 15. – С. 73–76.

4. Галкин А. А. Локомоторные свойства нейтрофилов и механизмы регуляции их движения /

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Акоюн В. Б. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами / В. Б. Акоюн, Ю. А. Ершов. – М. : Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. – С. 90–91, 97–101, 148–150.
2. Воейков В. Л. Благотворная роль активных форм кислорода / В. Л. Воейков // Сборник № 24-1. – 2001.

А. А. Галкин // Успехи соврем. биол. – **117**, № 6. – М., 1997. – С. 690–703

5. Действие активаторов на подвижность нейтрофилов / Галкин А. А., Туманов В. А., Тимин Е. Н., Корелин А. А. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – **124**, № 1. – С. 409–412.

6. Димитрис А. Папаниколау / (Developmental Endocrinology Branch, National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

7. Baranic M. Psychoneuroimmunology regulation of immunity at the systemic level / M. Baranic, A. Sabioncello, I. Cabrilovac // Listc.Viesn. – 2008. – **130**(3-4). – P. 624.

8. Cytocine dispegylation, in flamation and well-

being / L. I. Clencov, D. G. Jezzom, A. Daly [et al.] // Neuroimmunomodulation. – 2005. – **12**(5). – P. 255–269;

9. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevection and the American Heart Association / T. A. Pearson, G. A. Mensah, R. Wayne Alexander [et al.] // Circulation. – 2003. – **107**. – P. 499–511.

10. Takeola M. Contribution of activated interleukin receptors intrigeminal ganglion neutrons to hyperalgesia via satellite glial interleukin-1beta paracrine mechanism / M. Takeola, M. Takashi, S. Matsumoto // Brain Behav. Immun. – 2008. – **22**(7). – P. 1016–1023.

В. В. Литюга

УНЦ “ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ” КИЕВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО УЛЬТРАЗВУКА НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МЕДИАТОРОВ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ (IL-6, IL-8, TNF-а) В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС НА ПИКЕ РАЗВИТИЯ КАРРАГИНАНИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Резюме

Проведено исследование влияния низкоинтенсивного ультразвука (НУЗ) на содержание провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, FNO-a) в плазме крови на пике развития каррагинаниндуцированного воспаления задней конечности крыс. Отмечено достоверное уменьшение показателей содержания провоспалительных медиаторов острой фазы в условиях воздействия НУЗ, важные звенья механизма влияния НУЗ на тканевое повреждение воспалительной этиологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **низкоинтенсивный ультразвук, каррагинаниндуцированное воспаление, цитокины, интерлейкины IL-6, IL-8, TNF-а, индукция провоспалительных медиаторов.**

V. V. Lityuha

SRC “INSTITUTE OF BIOLOGY” OF TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF LOW-INTENSITY ULTRASOUND ON THE CONTENT OF PROINFLAMMATORY MEDIATORS OF CYTOKINE PROFILE (IL-6, IL-8, TNF-a) IN THE BLOOD PLASMA OF RATS AT THE PEAK OF CARRAGEENAN - INDUCED INFLAMMATION

Summary

There was made a research of the influence of low-intensity ultrasound on the content of proinflammatory cytokines (IL-6, IL-8, FNO-a) at the peak of carrageenan-induced inflammation of rat hind limb in the blood plasma. There was found out a significant decrease in the content of indicators of proinflammatory mediators of the acute phase under the action of MSH traced to an important link mechanism of action of MSH on inflammatory tissue injury etiology.

KEY WORDS: **low-intensive ultrasound-NUZ, carrageenan-induced inflammation, cytokines, interleukins-IL-6, IL-8, TNF-a; induction of proinflammatory mediators.**

Отримано 17.10.11

Адреса для листування: В. В. Літюга, ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка, просп. академіка Глушкова, 2, Київ, Україна.