

ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЕФЕКТИ АНТИБІОТИКІВ

В. М. Зоценко

Білоцерківський національний аграрний університет

Подано дані про вплив антибіотиків різних груп на здатність мононуклеарів периферичної крові великої рогатої худоби продукувати інтерферон гамма та фактор некрозу пухлин. Встановлено, що препарати, антимікробний механізм дії яких обумовлений здатністю подавляти синтез білків, проявляють гальмівні властивості щодо процесів цитокіноутворення. Отримані модулюючі ефекти мають дозозалежний характер. Найбільш високі протизапальні властивості виявлені у макролідів і фторхінолонів, а найменші — були властиві бета-лактамам.

Ключові слова: АНТИБІОТИКИ, ЦИТОКІНИ, ВЕЛИКА РОГАТА ХУДОБА

Антибіотики широко використовуються як бактерицидні і бактеріостатичні препарати для лікування інфекційних захворювань. Окрім відповідних взаємодій антибіотиків з мікроорганізмами, вони також впливають на імунну систему макроорганізму. Їх імуномодулюючі ефекти включають зміни фагоцитозу, хемотаксису, релізу ендотоксинів, продукції цитокінів, процесів кровотворення [1, 2]. Завдяки індукції або інгібіції апоптозу антибіотики змінюють терміни життя клітин організму [3].

Ліпосахариди (ЛПС) грам негативних і ліпотоїхоева кислота грам позитивних мікроорганізмів активують сигнальні шляхи відповідальні за синтез фактору некрозу пухлин (ФНП), індукцибельної синтетази азоту, хемокінів. Названі біологічно активні сполуки можуть спричинити неконтрольовану інфільтрацію у місце запалення фагоцитів, спричинити їх некроз і забезпечити перехід захисної реакції у пошкоджуючу [4]. Особливо небезпечний розвиток таких подій для великої рогатої худоби, ендотеліальні клітини якої більш чутливі до ініціаторів запального процесу ніж клітини інших біологічних видів [5].

Традиційно основним біологічним ефектом антибіотиків вважається антимікробний, однак значне число сучасних досліджень указує на наявність важливого компоненту їх дії — здатності генерувати протизапальний ефект. Багато описаних імуномодулюючих ефектів антибіотиків пов'язані з скороченнями або збільшенням накопичення цитокінів. Регулююча дія антибіотиків на процеси цитокіноутворення показана в умовах *in vitro* та *in vivo*. Більшість цих експериментів виконані на клітинах людини і мишей [6, 7].

Критична роль у розвитку запального процесу у легенях і вимені великої рогатої худоби поряд з мікроорганізмами належить таким прозапальним цитокінам, як фактор некрозу пухлин (ФНП) та інтерферон гамма (ІФН- γ) [8, 9]. Тому пошук сполук, що мають одночасно антимікробні і протизапальні властивості, дозволить підвищити терапевтичну ефективність цих запальних процесів.

Мета роботи — оцінити вплив антибіотиків різних груп на виробництво прозапальних цитокінів мононуклеарами периферичної крові (МПК) великої рогатої худоби.

Матеріали і методи

МПК отримували з гепаринізованої крові, центрифугуванням на градієнті щільності, загальноприйнятим методом [10]. Клітини ресуспензували у середовищі RPMI — 1640 γ^3 10 % ембріональної сироватки телят і 10 мл HEPES і при щільності 10^6 клітин/мл сіяли у 24-ямкові планшети.

МПК піддавалися дії ЛПС (100 кл/мл) або фітогемаглютиніну 5 мкг/мл з антибіотиками (у концентрації від 1,6 до 40 мкг/мл) і без них (контроль). Через 24 години інкубування при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂ у безклітинному супернатанті визначали концентрацію ФНП та ІФН-γ. Для титрування цитокінів використовували традиційні методи [11, 12].

У дослідженнях використовували такі антимікробні препарати: бета-лактами (бензілпеніцилін, ампіцилін), цефалоспорини (цефалозін, цефотаксим), аміноглікозиди (стрептоміцин, гентаміцин), тетрацикліни (окситетрациклін, хлортетрациклін), макроліди (еритроміцин, олеандоміцин), фторхінолони (енрофлоксацин, левофлоксацин), поліпептиди (поліміксин, колістин), хлорамфенікол.

Статистичну обробку даних проводили на ПК з використанням програми «Statistica».

Результати й обговорення

Жоден з антибіотиків у концентраціях, що використовувались, при додаванні до МПК не індукував синтез цитокінів і не проявляв цитотоксичних властивостей. Максимальні дози антибіотиків (табл. 1.) знижували продукування МПК ІФН-γ на 25–80 %. Найбільшу супресуючу активність показали бета-лактами, фторхінолони та хлорамфенікол. Уже у мінімальній дозі вони пригнічували рівень ІФН-γ на 25–75 % порівняно з контролем. Депресивний ефект бета-лактамів на синтез ІФН-γ спостерігали інші автори [13].

Таблиця 1

Вплив антибіотиків на продукцію ІФН-γ

№ п/п	Препарат	Ефект		
		1,6 мкг/мл	8 мкг/мл	40 мкг/мл
1	Пеніцилін	↓++	↓+++	↓+++
2	Ампіцилін	↓++	↓+++	↓+++
3	Цефалозін	–	↓+	↓++
4	Цефотаксим	–	↓+	↓++
5	Стрептоміцин	↓+	↓++	↓+++
6	Гентаміцин	↑+	↓+	↓++
7	Окситетрациклін	↑+	↓+	↓++
8	Хлортетрациклін	↑+	↓+	↓++
9	Еритроміцин	–	↓+	↓++
10	Олеандоміцин	–	↓+	↓++
11	Енрофлоксацин	↓++	↓+++	↓+++
12	Левофлоксацин	↓++	↓+++	↓+++
13	Поліміксин	–	↓+	↓++
14	Колістин	–	↓+	↓++
15	Хлорамфенікол	↓++	↓++	↓+++

Примітка: у цій і наступній таблиці: «–» — ефект відсутній; ↑ — стимуляція або ↓ — супресія синтезу; + — < 25 %; ++ — 25 % до 75 %; +++ — > 75 %

Тетрацикліни та аміноглікозид гентаміцин проявили різнопоправлену активність. У низьких дозах вони стимулювали, а високих (8, 40 мкг/мл) супресували продукування ІФН-γ. Макроліди та цефалоспорини у мінімальних концентраціях не впливали на інтерферонсинтезуючу здатність МПК. Зростання їх концентрації у культуральній рідині сприяло зменшенню титру досліджуваного цитокіну (табл. 2).

У цій тест-системі антибіотики проявили однонаправлену дозозалежну супресуючу активність. Найбільш пригнічену активність встановлено у макролідів та фторхінолонів. Так, уже мінімальні концентрації цих препаратів знижували рівень ФНП у культуральній рідині на 25–75 %, а збільшення їх вмісту посилювало отриманий ефект. Натомість бета-лактами (пеніцилін і ампіцилін) виявили супресуючу активність тільки у максимальній дозі.

Вплив антибіотиків на продукцію ФНП

№ п/п	Препарат	Ефект		
		1,6 мкг/мл	8 мкг/мл	40 мкг/мл
1	Пеніцилін	–	–	↓+
2	Ампіцилін	–	–	↓+
3	Цефазолін	↓+	↓++	↓+++
4	Цефотаксим	↓+	↓++	↓
5	Стрептоміцин	↓+	↓++	↓+++
6	Гентаміцин	↓+	↓+++	↓+++
7	Окситетрациклін	↓+	↓+++	↓+++
8	Хлортетрациклін	↓+	↓++	↓+++
9	Еритроміцин	↓++	↓+++	↓+++
10	Олеандоміцин	↓++	↓+++	↓+++
11	Енрофлоксацин	↓++	↓+++	↓+++
12	Левофлоксацин	↓++	↓+++	↓+++
13	Поліміксин	–	↓+	↓++
14	Колістин	–	↓+	↓++
15	Хлорамфенікол	–	↓+	↓++

Таким чином, проведені дослідження показали, що антибіотики поряд з антибактеріальними мають імуномодельючі і протизапальні властивості. У максимальних дозах вони діють депресуюче на процеси цитокиноутворення, а у низьких цей ефект менш виражений, а деякі препарати діють стимулююче. Схожі результати отримані у якості експериментальних моделей з МПК людини і мишей [6, 7]. Таке дозове різноманіття досліджуваної активності, можна пояснити відмінностями фізико-хімічних і біологічних характеристик антимікробних засобів використаних в експерименті.

Отримані дані можуть виявитись корисними у терапевтичній практиці. Загальноприйнято, що розвиток інфекційного процесу супроводжується запаленням, яке може набувати неконтрольованого розвитку. Тому сполуки, які мають антимікробні властивості і здатні генерувати протизапальну дію, будуть більш ефективними лікувальними засобами.

Висновки

1. Антибіотики різних груп мають широкий спектр імунотропної активності, направленість якої відмінна за використання різних доз.
2. Антимікробні препарати, механізм дії яких обумовлений інгібіцією синтезу білків, здатні гальмувати процеси синтезу цитокінів.
3. Високі протизапальні властивості виявлені у макролідів та фторхінолонів, а низькі — були властиві бета-лактамам.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати свідчать про необхідність проведення експериментів на моделі *in vivo*.

V. M. Zotsenko

IMMUNOMODULATION AND ANTI INFLAMMATION EFFECTS OF ANTIBIOTICS

S u m m a r y

The data about effects of different group antibiotics on interferon and tumor necrosis factor producing by mononuclear's bovine peripheral blood are presented in this article. It was established, that preparations which antimicrobial mechanism is caused by ability to suppress protein synthesis, has inhabiting abilities concerning cytokine-creation processes. The received modulating effects have dose-depended character. The highest anti-inflammatory abilities are revealed at macrolids and flouroquinolones, and lowest at beta-lactamm antibiotics.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ АНТИБИОТИКОВ

А н н о т а ц и я

Представлено данные о влиянии антибиотиков разных групп на способность мононуклеаров периферической крови крупного рогатого скота продуцировать интерферон гамма и фактор некроза опухолей. Установлено, что препараты антимикробный механизм действия которых обусловлен способностью подавлять синтез белка, проявляет ингибирующие способности относительно процессов цитокинообразования. Полученные модулирующие эффекты имеют дозозависимый характер. Наиболее высокая противовоспалительная активность выявлена у макролидов и фторхинолонов, а самые низкие были характерны для бета-лактамов.

1. *Кашкин К. П.* Иммунная реактивность организма и антибиотическая терапия / К. П. Кашкин, З. О. Караев. — Л. : Медицина, 1984. — 200 с.

2. *Minic C.* Immunomodulatory actions of antibiotic / C. Minic, M. Bojic, J. Vukadinov et al. // *Med. Pregl.* — 2009. — Vol. 62, № 7–8. — P. 327–330.

3. *Chin A. C.* Tilmicosin induced apoptosis in bovine peripheral neutrophils in the presence or the absence of *Pasteurella haemolytica* and promotes neutrophil phagocytosis by macrophages / A. C. Chin, W. D. Lee, K. A. Murrin [et al.] // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 2000. — Vol. 44, № 9. — P. 2465–2470.

4. *Позур В. К.* Структура і біологічна активність бактеріальних біополімерів : монографія / В. К. Позур, Д. В. Калибо, В. А. Борисов [та ін.] ; за ред. В. К. Позура. — К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2003. — 305 с.

5. *Cates E. A.* Functional characterization of bovine TIRAP and MyD 88 in mediating bacterial lipopolysaccharide — induced endothelial NF- κ B activation and apoptosis / E. A. Cates, E. E. Connor, D. M. Mosser [et al.] // *Comper. Immun. Microb. Infect. Dis.* — 2009. — Vol. 32, № 6. — P. 477–490.

6. *Choi J.-H.* Effect of Proinflammatory cytokines from Human Peripheral Blood Mononuclear cells / J.-H. Choi, M.-J. Saug, S. H. [et al.] // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 2003. — Vol. 47, № 12. — P. 3704–3707.

7. *Leiva M.* Effect of telithromycin in In vitro and In vivo Models of lipopolysaccharide-induced AirWay Inflammation / M. Leiva, A. Ruiz-Bravo, M. Jimenez-Varera // *Chest.* — 2008. — Vol. 134, № 1. — P. 20–29.

8. *Gruet P.* Bovine mastitis and intramammary drug delivery review and perspectives / P. Gruet, P. Maincent, X. Berthelot, et al // *Advanc. Drug Del. Rev.* — 2001. — Vol. 50, № 3. — P. 245–259.

9. *Collins R. A.* Influence of IL-12 on interferon — γ production by bovine leucocyte subsets in response to bovine respiratory syncytial virus / R. A. Collins, E. V. Camon, P. J. Chaplin, C. J. Howard // *Vet. Immunol. Immunopat.* — 1998. — Vol. 63, № 1–2. — P. 69–72.

10. *Полевщиков А. В.* Новые подходы к оценке функциональной активности крови крупного рогатого скота / А. В. Полевщиков, Е. В. Кучеревская, Я. С. Зайкова [и соавт.] // *Ветеринария.* — 1993. — № 2. — С. 47–49.

11. *Нікітенко А. М.* Рекомендації дослідження природної резистентності свиней / А. М. Нікітенко, В. П. Лясота, В. В. Малина [та ін.]. — Львів, 2004. — 68 с.

12. *Meager A.* Assays for tumor necrosis factor and related cytokines / A. Meager, H. Leung, J. Wolley // *J. Immunol. Meth.* — 1989. — Vol. 116, № 1. — P. 1–17.

13. *Brooks B.M.* Differential effects of beta-lactams on human IFN-gamma activity / B. M. Brooks, C.A. Hort, et al // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2005. — Vol. 56, № 6. — P. 1122–1125.

Рецензент: доктор ветеринарних наук, зав. кафедрою фізіології і патофізіології, Білоцерківський НАУ Ніщименко М. П.