

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «СІФУЗОЛ» НА РІВЕНЬ ЦИТОКІНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ

***Т. В. ЗВЕНІГОРОДСЬКА, кандидат ветеринарних наук
Б. П. КИРИЧКО, доктор ветеринарних наук
Полтавська державна аграрна академія
E-mail: Tami777@ukr.net***

Анотація. Пошук активних сполук, здатних без побічних ефектів впливати на початкові етапи ініціації і розвитку запальних процесів, є найважливішим завданням сучасної ветеринарної медицини. Нашою метою було дослідити ефективність застосування нового похідного триазолу «Сіфузол» за гострого експериментального запалення у щурів за введення субплантарно флогогенного агента.

Для дослідження було відібрано 60 безпородних самців щурів масою 170-220 г й сформовано 3 групи: інтактні, контроль та дослід. У сироватці крові визначали вміст прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α та протизапального цитокіну ІЛ-10 за допомогою тест-наборів для ензимного імуносорбентного аналізу. Встановлено, що використання 6 мг сіфузолу внутрішньом'язово упродовж семи днів впливає на цитокіновий профіль щурів та сприяє процесу загоєння.

Імунокорегуюча дія препарату полягає в статистично вірогідному зниженні прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α на третю добу дослідження ($p < 0,01$) та підвищенні протизапального цитокіну ІЛ-10 на сьому добу ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем.

Ключові слова: сіфузол, запалення, цитокіни, щури

Актуальність. Прогресивний розвиток сучасної ветеринарної медицини потребує впровадження в практику нових малотоксичних та високоактивних у фармакологічному відношенні лікарських препаратів. Саме такими препаратами є похідні триазолу. Їх різнобічна дія поряд із незначною токсичністю створюють підґрунтя для отримання нових сполук із вираженою фармакологічною активністю [3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. В патогенезі розвитку і перебігу запальних процесів велику роль відіграють цитокіни – група гормоноподібних білків і пептидів, медіаторів запалення [5]. Дисбаланс у системі цитокінів має суттєвий вплив на перебіг запальної реакції. Похідні триазолу, зокрема тіотриазолін, виявляють антиоксидантні, протизапальні, протівірусні, імуностимулюючі та анаболітичні властивості. Встановлено, що деякі похідні триазолу мають

імунокоригуючий ефект, який полягає у зниженні вмісту В-лімфоцитів, різних розмірів ЦІК, підвищенні вмісту Т-лімфоцитів у крові [1]. Мембраностабілізуючу властивість тіотриазоліну використовують за умов розвитку запальних і імунологічних реакцій, оскільки відбувається стабілізація мембран базофілів та еозинофілів, обмежується викид гістаміну, серотоніну та інших біогенних амінів [2].

Мета дослідження. Виявити характер впливу препарату «Сіфузол» на прозапальну та протизапальну ланку цитокинових порушень за експериментального відтворення гострого набряку запалення в щурів.

Роботу виконували в межах тематики наукових досліджень кафедри хірургії та акушерства Полтавської державної аграрної академії «Вивчення патогенезу та розробка патогенетичних методів терапії запальних процесів при хірургічних хворобах тварин».

Матеріали і методи дослідження. Експеримент проводили на 60-ти білих безпородних клінічно здорових самцях щурів масою 170-220 г із віварію УМСА. Умови утримання тварин та методики експериментальних досліджень відповідали положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Тварини знаходилися на повноцінному раціоні з вільним доступом до води. Відтворення гострого набряку запалення проводили шляхом введення підшкірно в задню лапу флогогенного агенту, до складу якого входять розчини карагеніну, агару, каоліну та формаліну [6]. Тварин розподілили на три групи: I – інтактні ($n = 5$), II – контроль – тварини, яким після відтворення гострого запалення вводили внутрішньом'язово упродовж семи днів 0,4 мл фізіологічного розчину ($n = 5$), III – дослідні, яким після відтворення гострого запалення вводили внутрішньом'язово протягом семи днів препарат «Сіфузол» в дозі 6 мг – 0,4 мл ($n = 5$). Для досліджень відбирали зразки крові на першу, третю та сьому добу експерименту. В сироватці крові визначали вміст прозапальних цитокинів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α та протизапального цитокіну ІЛ-10 за допомогою тест-наборів для ензимного імуносорбентного аналізу (Rat IL-1 beta Platinum ELISA, Rat IL-6 Platinum ELISA, Rat TNF alpha Platinum ELISA) виробництва eBioscience (США). Отримані результати опрацьовували статистично.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати змін показників прозапальних цитокинів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α у сироватці крові щурів наведені в табл. 1.

Нашими дослідженнями було встановлено, що за формування гострого запального процесу у тварин другої групи вже на першу добу збільшується вміст ІЛ-1 β до $8,4 \pm 0,5$ нг/мл ($p < 0,001$) в порівнянні з показниками інтактних тварин ($4,32 \pm 0,3$ нг/мл). На третю добу та

сьому добу рівень ІЛ-1 β в сироватці крові зростає до $9,4 \pm 0,21$ нг/мл ($p < 0,001$) та $7,5 \pm 0,3$ нг/мл ($p < 0,001$) відповідно. У тварин третьої групи вміст у сироватці крові прозапального інтерлейкіну 1 β на третю ($5,24 \pm 0,3$ нг/мл) та сьому добу ($5,3 \pm 0,34$ нг/мл) вірогідно менший в порівнянні з білими щурами другої групи (29 %, $p < 0,01$).

1. Динаміка вмісту прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α в сироватці крові білих щурів, $M \pm m$

Показники	Групи тварин	Період дослідження, доба		
		1	3	7
ІЛ-1 β , нг/мл	1 ($n = 5$)	$4,32 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,22$	$4,37 \pm 0,2$
	2 ($n = 5$)	$8,4 \pm 0,5^{***}$	$9,4 \pm 0,21^{***}$	$7,5 \pm 0,3^{***}$
	3 ($n = 5$)	$7,9 \pm 0,42$	$5,24 \pm 0,3^{***}$	$5,3 \pm 0,34^{**}$
ІЛ-6, нг/мл	1 ($n = 5$)	$4,2 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,3$
	2 ($n = 5$)	$15,5 \pm 1,03^{***}$	$14 \pm 0,9^{***}$	$12,1 \pm 1,02^{**}$
	3 ($n = 5$)	$13,7 \pm 0,8$	$9,4 \pm 0,5^{**}$	$7,3 \pm 0,6^{\cdot}$
ФНП- α , нг/мл	1 ($n = 5$)	$6,4 \pm 0,4$	$6,0 \pm 0,43$	$6,4 \pm 0,3$
	2 ($n = 5$)	$8,4 \pm 0,51^*$	$12,4 \pm 0,82^*$	$14,7 \pm 1,2^{**}$
	3 ($n = 5$)	$8,2 \pm 0,4$	$8,43 \pm 0,6^{\cdot}$	$8,7 \pm 0,5^{**}$

Примітки: 1. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з інтактними тваринами; 2. \cdot – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з тваринами з відтвореним запаленням

Вміст ІЛ-6 в сироватці крові контрольних та дослідних тварин значно вищий за показники тварин інтактної групи ($15,5 \pm 1,03$ та $13,7 \pm 0,8$ нг/мл, $p < 0,001$). Але вже починаючи з третьої доби показник ІЛ-6 вірогідно нижчий у тварин третьої групи ($9,4 \pm 0,5$ нг/мл в порівнянні з $14 \pm 0,9$ нг/мл, $p < 0,01$). На сьому добу вміст цитокіну ІЛ-6 в сироватці крові тварин дослідної групи становить $7,3 \pm 0,6$ нг/мл, що на 42 % менше показника контрольної групи ($p < 0,05$). Зниження ІЛ-6 в крові найімовірніше відображає зменшення його продукції макрофагами і лімфоїдними дендритними клітинами.

Рівень ФНП- α в сироватці крові щурів другої групи вірогідно збільшений в порівнянні з інтактними тваринами на першу ($8,4 \pm 0,51$, $p < 0,05$), третю ($12,4 \pm 0,82$, $p < 0,05$) та сьому добу ($14,7 \pm 1,2$, $p < 0,01$). В третій дослідній групі показник ФНП- α протягом семи днів має незначні коливання ($8,2 \pm 0,4$ □ $8,7 \pm 0,5$ нг/мл) та є вірогідно нижчим за контроль ($p < 0,01$).

Отже, за формування гострого асептичного запалення реєстрували вірогідне підвищення вмісту прозапальних цитокінів у сироватці крові тварин як дослідної, так і контрольної груп. Варто відзначити, що в групі, де застосовували препарат «Сіфузол», в динаміці вміст прозапальних цитокінів зменшувався в порівнянні з контролем. Місцеве запалення, після введення субплантарно флогогенного агента, є важливим для загоєння і захисту організму від інфекції. Проте відомо, що надмірна

аккумуляція в крові прозапальних цитокінів призводить до генералізованого сепсису та поліорганної недостатності [4]. Отримані дані можуть свідчити про гальмівний вплив сіфузолу на розвиток запального процесу.

В таблиці 2 наведені зміни вмісту в сироватці крові щурів протизапального цитокіну ІЛ-10.

2. Динаміка вмісту протизапального цитокіну ІЛ-10 в сироватці крові білих щурів, $M \pm m$

Показники	Групи тварин	Період дослідження, доба		
		1	3	7
ІЛ-10, нг/мл	1 ($n = 5$)	$5,2 \pm 0,6$	$6,0 \pm 0,74$	$5,7 \pm 0,6$
	2 ($n = 5$)	$6,5 \pm 0,52$	$7,3 \pm 0,6$	$14,7 \pm 1,1^{***}$
	3 ($n = 5$)	$6,3 \pm 0,5$	$10,4 \pm 0,7^*$	$19,62 \pm 0,9^*$

Примітки: 1. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з інтактними тваринами; 2. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з тваринами з відтвореним запаленням

В контрольній групі щурів статистично вірогідно збільшується рівень ІЛ-10 лише на сьому добу ($14,7 \pm 1,1$, $p < 0,001$), тоді як в дослідній групі – на третю добу реєстрували підвищення рівня ІЛ-10 до $10,4 \pm 0,7$ нг/мл ($p < 0,01$), на сьому – до $19,62 \pm 0,9$ нг/мл ($p < 0,001$).

По відношенню ІЛ-10 до ІЛ-1 β та ІЛ-6 реєстрували антагоністичну картину в третій дослідній групі. Можливо такий зв'язок між ведучими про- та протизапальними цитокінами є оптимальним за гострого запалення.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Одержані результати дозволяють припустити, що використання внутрішньом'язово препарату «Сіфузол» щурам у дозі 6 мг протягом семи днів впливає на початкові етапи формування запальної реакції. Імунокорегуюча дія препарату полягає в зміні цитокінового профілю, зокрема у зниженні в динаміці вмісту прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α на третю добу дослідження та підвищенні вмісту протизапального цитокіну ІЛ-10 на сьому добу в порівнянні з контролем.

Планується дослідити антиоксидантні та гепатопротекторні властивості препарату «Сіфузол» на різних видах тварин.

Список літератури

1. Беленічев І. Ф. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення / І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко, В. В. Дунаєв // Ліки. – 2002. – № 12. – С. 43–46.
2. Бибик В. В. Тиотриазолин: фармакологія и фармакотерапія (обзор літератури) / В. В. Бибик, Д. М. Болгов // Український медичний альманах. – 2000. – Т. 3, № 4. – С. 226–229.

3. Киричко Б. П. Вплив препаратів антиоксидантної дії на клініко-біохімічний прояв гострого асептичного запалення / Б. П. Киричко // Вісн. Полтавської держ. аграр. акад. – 2005. – № 2. – С. 52–53.
4. Кулинский В. И. Терапия воспалительных процессов // Биохимия. – 2007. Вып.6. – С. 733–746.
5. Мащенко И. С. Обмен цитокинов у больных с генерализованным пародонтитом / И. С. Мащенко // Современ. стоматология. – 2004. – № 1. – С. 73–75.
6. Методи клінічних експериментальних досліджень в медицині / Беркало Л. В., Бобрович О. В., Боброва Н. О. та ін.; за ред. І. П. Кайдашева – Полтава: Полімет, 2003 – С. 158–166

References

1. Bielenichev I. F., Kovalenko S. I., Dunaiev V. V. (2002). Antyoksydanty: suchasni uiavlennia, perspektyvy stvorennia [Antioxidants: current knowledge and prospects]. Kyiv, Liky, № 12, 43–46. (in Ukraine)
2. Bibik V.V., Bolgov D. M. (2000). Tiotriazolin: farmakologiya i farmakoterapiya [Thiotriazolin: pharmacology and pharmacotherapy]. Kyiv, Ukrayinskiy medichniy almanah, T. 3, № 4, 226–229. (in Ukraine)
3. Kyrychko B. P. (2005). Vplyv preparativ antyoksydantnoi dii na kliniko-biokhimichniy proiav hostroho aseptychnoho zapalennia [The effect of antioxidant drugs on the clinical and biochemical manifestation of acute aseptic inflammation]. Poltava, Visn. Poltavskoi derzh. ahrar. Akad, № 2, 52–53. (in Ukraine)
4. Kulinskiy V. I. (2007). Biohimiya [Biochemistry]. Kyiv, 733–746. (in Ukraine)
5. Maschenko I. S. (2004). Obmen tsitokinov u bolnyih s generalizovannyim parodontitom [The exchange of cytokines in patients with generalized periodontitis]. Kyiv, Sovrem. Stomatologiya, № 1, 73–75. (in Ukraine)
6. Berkalo L. V., Bobrovych O. V., Bobrova N. O. (2003). Metody klinichnykh eksperymentalnykh doslidzhen v medytsyni [Methods of clinical experimental research in medicine]. Poltava: Polimet, 158–166. (in Ukraine)

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «СИФУЗОЛ» НА УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ВОСПАЛЕНИИ

Т. В. Звенигородская, Б. П. Киричко

Аннотация. Поиск активных соединений, способных без побочных эффектов влиять на начальные этапы инициации и развития воспалительных процессов, является важнейшей задачей современной ветеринарной медицины. Нашей целью было исследовать эффективность применения нового производного

триазола «Сифузол» при остром экспериментальном воспалении у крыс при введении субплантарно флогогенного агента.

Для исследования было отобрано 60 беспородных самцов крыс массой 170-220 г и сформировано 3 группы: интактные, контроль и опыт. В сыворотке крови определяли содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 с помощью тест-наборов для энзимного имунсорбентного анализа. Установлено, что использование 6 мг сифузола внутримышечно в течение семи дней влияет на цитокиновый профиль крыс и способствует процессу заживления.

Иммунокоррекционное действие препарата заключается в статистически достоверном снижении провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α в сыворотке крови крыс на третьи сутки исследования ($p < 0,01$) и повышении противовоспалительного цитокина ИЛ-10 на седьмые сутки ($p < 0,05$) в сравнении с контролем.

Ключевые слова: сифузол, воспаление, цитокины, крысы

INFLUENCE OF PREPARATION "SIFUZOL" ON THE LEVEL OF SERUM CYTOKINES IN RATS WITH ACUTE INFLAMMATION

T. V. Zvenigorodska, B. P. Kirichko

Abstract. Search active compounds, without the side effects can influence the initial stages of initiation and development of inflammatory processes, it is the most important task of modern veterinary medicine. Our aim was to investigate the efficacy of a novel triazole "Sifuzol" in acute experimental inflammation in rats when administered subplantarno flogogenno agent.

For the study were selected 60 mongrel male rats weighing 170-220 g and formed three groups: intact, control and experience. In the blood serum proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α and anti-inflammatory cytokine IL-10 using test kits imunosorbentnogo enzyme analysis. It is found that the use of intramuscular sifuzola 6 mg for seven days to affect the cytokine profile of rats and promotes the healing process.

Immunokorreksionnoe drug effect is statistically significant decrease of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α in the serum of rats on the third day of the study ($p < 0.01$) increase and anti-inflammatory cytokine IL-10 on the seventh day ($p < 0.05$) compared to the control.

Keywords: sifuzol, inflammation, cytokines, rat