

**ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ  
ИНГИБИТОРА МАТРИЧНЫХ  
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ НА ЭТАПАХ РЕПАРАЦИИ  
ОЖГОВОЙ РАНЫ: ВЛИЯНИЕ НА УРОВНИ  
ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ  
ЦИТОКИНОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ**

**А.В.Александрова**

*Харьковский национальный медицинский университет*

**Введение**

Межклеточные взаимодействия в ране обеспечиваются разными медиаторами. Среди этих медиаторов выделяют реактивно окисленные метаболиты, метаболиты арахидоновой кислоты, включая простагландины и липооксигеназные продукты, фактор активации тромбоцитов, цитокины и факторы роста, протеолитические ферменты. Ведущая роль в регуляции межклеточных взаимодействий принадлежит цитокинам и факторам роста [3,4]. В научных исследованиях последнего десятилетия продемонстрирована зависимость иммунного ответа от аллельного полиморфизма генов цитокинов. Результатом таких работ *in vitro* стало выявление отдельных аллелей генов, ассоциированных с повышенной или сниженной продукцией соответствующего цитокина [8], что может влиять на течение заболевания. Полученные результаты позволяют предположить, что полиморфные гены цитокинов принимают активное участие в формировании специфического иммунного ответа на патологические состояния человека. Важную роль во взаимодействии клеточных и гуморальных факторов иммунных и воспалительных реакций играет интерлейкин-4 (IL-4) - один из основных провоспалительных цитокинов и биохимических маркеров Т-хелпер-2-ассоциированного воспаления [7,9]. Продемонстрировано, что повышенная экспрессия ФНП находится в основе патогенеза аутоиммунных поражений, индуцируя экспрессию тканевых прокоагулянтных факторов, активацию

цию лизосомных факторов, протеаз, образования свободных радикалов и активных форм кислорода [5]. Большой интерес в сегодняшнее время проявляется к изучению роли фактора некроза опухоли- $\alpha$  в процессах заживления ран [1]. Эффективность монотерапии ингибиторами матричных металлопротеиназ (доксциклин) на этапах репарации ожоговой раны практически не изучена, в то же время, отсутствуют данные относительно мембраностабилизирующего эффекта.

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Исследование выполнено по плану научно-исследовательских работ (НИР) Харьковского национального медицинского университета МЗ Украины и является фрагментом НИР "Создание, исследование и патогенетическое обоснование новых комбинированных лекарственных препаратов политропного действия" (госрегистрация № 0109U001748).

**Цель исследования** состояла в изучении уровней отдельных про- и противовоспалительных цитокинов в периферической крови на этапах репарации ожоговой раны под воздействием ингибитора матричных металлопротеиназ доксициклина.

**Материалы и методы исследования**

Уровень в периферической крови провоспалительного цитокина IL-4 и фактора некроза опухоли изучен нами на этапах лабораторного мониторинга репарации ожоговой раны. IL-4 и TNF- $\alpha$  определяли иммуноферментным методом [6] с использованием коммерческих тест-систем производства фирмы "Вектор-БЕСТ" (Россия, Санкт-Петербург) согласно прилагаемой к набору инструкции на иммуноферментном анализаторе "Labline-90" (Австрия) в периферической крови животных (интактные - 24 особи, ожог без лечения - 24 особи, лечение доксициклином в дозе 2,5 в дозе мг/кг веса - 24 особи и лечение доксициклином в дозе 30,0 в дозе мг/кг веса - 24 особи; всего задействовано 96 половозрелых крыс популяции WAG, массой 200-250г, включая 72 - с экспериментальным термическим ожогом) на этапах репарации (7-е, 14-е, 21-е, 28-е сутки) ожоговой раны.

При статистической обработке использованы лицензированные программные продукты ("BMP", "EXCEL"), что позво-

лило обеспечить необходимый уровень стандартизации при статистической обработке результатов исследования [2, 10].

**Полученные результаты и их обсуждение**

Выявлено (табл. 1), что у не леченных животных к 7-м суткам после ожога уровень ИЛ-4 был достоверно ниже референтного (соответственно  $18,52 \pm 0,99$  пкг/мл и  $41,11 \pm 1,47$  пкг/мл,  $p \leq 0,001$ ) и к 28-м суткам не достигал его.

Таблица 1

**Уровень интерлейкина-4 (пкг/мл) в сыворотке животных на этапах репарации ожоговой раны**

| Группы                      | Сроки наблюдения (сутки)  |                           |                           |                         |
|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
|                             | 7-е                       | 14-е                      | 21-е                      | 28-е                    |
| Интактные, n=6              | 41,11±1,47                |                           |                           |                         |
| Ожог без лечения, n=6       | 18,52±0,99 <sup>a</sup>   | 23,88±1,27 <sup>a</sup>   | 29,68±1,33 <sup>a</sup>   | 33,58±0,96 <sup>a</sup> |
| Доксициклин, 30 мг/кг, n=6  | 21,83±1,34 <sup>a,б</sup> | 28,41±1,65 <sup>a,б</sup> | 40,22±1,55 <sup>б</sup>   | 43,84±2,02 <sup>б</sup> |
| Доксициклин, 2,5 мг/кг, n=6 | 20,53±0,72 <sup>a</sup>   | 24,03±1,15 <sup>a</sup>   | 36,27±1,78 <sup>a,б</sup> | 40,43±0,83 <sup>б</sup> |

**Примечания:** в табл.1-2 а - достоверность различий по сравнению с интактными,  $p \leq 0,05$ ; б-достоверность различий по сравнению с ожогом без лечения,  $p \leq 0,05$ ; в - достоверность различий по сравнению с предыдущим этапом репарации раны.

Уровень в периферической крови противовоспалительного фактора некроза опухоли ФНО-α изучен на этапах лабораторного мониторинга репарации ожоговой раны и выявлено (табл. 2), что у не леченных животных к 7-м суткам после ожога уровень ФНО-α был достоверно выше референтного (соответственно  $67,91 \pm 1,80$  пкг/мл и  $27,24 \pm 0,74$  пкг/мл,  $p \leq 0,0001$ ) и к 28-м суткам превышал его практически в два раза.

Под воздействием монотерапии доксициклином, не зависимо от дозы препарата, к 7-м суткам достигался фармакокоррекционный эффект, характеризующийся подавлением противовоспалительной активности и ее снижением к 28-ми суткам с достижением референтных значений. Доза препарата была значимой лишь относительно скорости снижения противовоспалительной активности, что проявилось достоверными различиями

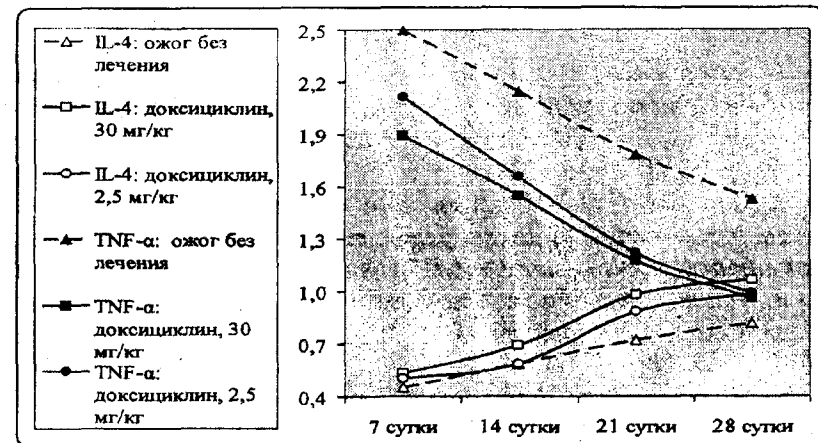
в уровнях ФНО-α на 7-е сутки фармакотерапии ( $p \leq 0,05$ ), когда при дозе 30 мг/кг уровень противовоспалительного цитокина выявлен достоверно более низким, чем при дозе 2,5 мг/кг (соответственно  $51,42 \pm 1,67$  пкг/мл и  $57,58 \pm 1,47$  пкг/мл).

Таблица 2

**Уровень фактора некроза опухоли (пкг/мл) в сыворотке животных на этапах репарации ожоговой раны**

| Группы                      | Сроки наблюдения (сутки)  |                             |                             |                           |
|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|                             | 7-е                       | 14-е                        | 21-е                        | 28-е                      |
| Интактные, n=6              | 27,24±0,74                |                             |                             |                           |
| Ожог без лечения, n=6       | 67,91±1,80 <sup>a</sup>   | 58,40±0,97 <sup>a</sup>     | 48,59±1,45 <sup>a</sup>     | 41,66±1,21 <sup>a</sup>   |
| Доксициклин, 30 мг/кг, n=6  | 51,42±1,67 <sup>a,б</sup> | 42,26±1,65 <sup>a,б,в</sup> | 31,90±1,82 <sup>a,б,в</sup> | 26,11±1,75 <sup>б,в</sup> |
| Доксициклин, 2,5 мг/кг, n=6 | 57,58±1,47 <sup>a,б</sup> | 45,06±1,87 <sup>a,б,в</sup> | 33,24±0,98 <sup>a,б,в</sup> | 26,94±1,47 <sup>б,в</sup> |

Таким образом, монотерапия доксициклином обеспечивает: на 7-е сутки - достоверное снижение противовоспалительной активности, а в случае монотерапии в суточной дозе 30,0 мг/кг - дополнительно ещё и достоверное возрастание провоспалительной активности.



**Рис.1.** Стандартизованные показатели интерлейкина-4 и фактора некроза опухоли α на этапах репарации ожоговой раны без и при монотерапии доксициклином.

**Выводы**

1. Под воздействием монотерапии доксициклином, в зависимости от дозы препарата к 14-м (при дозе 30 мг/кг) и к 21-м суткам (при дозе 2,5 мг/кг) достигался фармакокоррекционный эффект, характеризующийся потенцированием провоспалительной активности и ее нарастанием к 28-ми суткам с достижением референтных значений, чего не происходило в группе животных не получавших доксициклин.

2. Независимо от применяемой в исследовании дозы доксициклина получен фармакокоррекционный эффект, что проявлялось достижением уровней противовоспалительной и провоспалительной активности, соответствующих показателям группы интактных животных.

3. При отсутствии фармакотерапии, провоспалительная активность возрастала, а противовоспалительная активность снижалась, не достигая соответствующих средних показателей группы интактных животных.

4. Перспективы дальнейших исследований связаны с проведением сравнительного анализа эффективности монотерапии доксициклином с препаратами с преимущественным антиоксидантным и анаболическим действием.

**Литература**

1. Демьянов А.В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // *Цитокины и воспаление*. - 2003. - Т.2, № 3. - С.20-35.

2. Коринко Р.О. Использование прикладных программ для статистического анализа результатов медицинского эксперимента / Р.О. Коринко. - СПб.: Наука, 1997. - 341 с.

3. Пальцев М.А. Растворимые медиаторы. Цитокины: Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев. - М.: Медицина, 1995. - С.39-59.

4. Пальцев М.А. Факторы роста: Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев, А.А. Иванов. - М.: Медицина, 1995. - С.59-77.

5. Потаннев М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М.П. Потаннев // *Иммунология*. - 2002. - № 4. - С.237-242.

6. *Современные методы в биохимии* / под ред. В.Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - С.63-66.

7. Jung T. Interleukin-4 and interleukin-5 are rarely coexpressed by human T-cells / T. Jung, U. Schauer, K. Rieger // *Eur. J. Immunol.* - 1995. - Vol.25. - P. 2413-2419.

8. Rudack C. Cytokines in nasal polyposis, acute and chronic sinusitis / C. Rudack, N. Stoll, C. Bachert // *Am. J. Rhinol.* - 1998. - V.12, № 6. - P.383-388.

9. Seong K.P. Expression of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase in nasal polyps associated with interleukin-4 promoter polymorphism-590 / K.P. Seong, W.H. Kyung, J. Hyun // *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. - 2006. - Vol.135. - P.928-932.

10. WHO: *Glossary of health care reform terminology* / WHO Regional Office. - Copenhagen, 1996. - 67 p.

**Резюме**

**Александрова А.В. Фармакотерапевтические эффекты ингибитора матричных металлопротеиназ на этапах репарации ожоговой раны: влияние на уровне про- и противовоспалительных цитокинов в периферической крови.**

Изучено влияние ингибитора матричных металлопротеиназ на уровне отдельных про- и противовоспалительных цитокинов животных с экспериментальным ожогом (крысы линии WAG). Выявлено, что монотерапия доксициклином, в зависимости от дозирования препарата к 14-й (при дозировании 30 мг/кг) и к 21-й суткам (при дозировании 2,5 мг/кг) достигался фармакокоррекционный эффект, характеризующийся потенцированием провоспалительной активности и ее ростом к 28-ым суткам с достижением референтных значений, чего не происходило в группе животных, не получавших доксициклин. При отсутствии фармакотерапии, провоспалительная активность возрастала, а противовоспалительная активность снижалась, не достигая соответствующих средних показателей группы интактных животных.

**Ключевые слова:** ингибитор матричных металлопротеиназ, про- и противовоспалительная активность, этапы репарации ожоговой раны.

**Резюме**

**Александрова А.В. Фармакотерапевтичні ефекти інгібітору матричних металопроїєїназ на етапах репарації опікової рани: вплив на рівні про-та протизапальних цитокинів в периферичній крові.**

Вивчено вплив інгібітору матричних металопротеїназ на рівні окремих про- та протизапальних цитокінів тварин з експериментальним опіком (щури лінії WAG). Виявлено, що монотерапія доксицикліном, в залежності від дозування препарату к 14-й (при дозуванні 30 мг/кг) та к 21-й добам (при дозуванні 2,5 мг/кг) досягався фармакокорекційний ефект, який характеризувався потенціюванням прозапальної активності та її зростанням к 28-й добі з досягненням референтних значень, чого не відбувалося в групі тварин, які не отримували доксициклін. При відсутності фармакотерапії, прозапальна активність зростала, а протизапальна активність знижувалась, не досягаючи відповідних середніх показників групи інтактних тварин.

**Ключові слова:** інгібітор матричних металопротеїназ, про- та протизапальна активність, етапи репарації опікової рани.

#### Summary

**Aleksandrova A.V.** *Pharmacotherapeutic effects of matrix metalloproteinase inhibitor on the stages of thermal injury reparation: the influence on the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in peripheral blood.*

The influence of matrix metalloproteinase inhibitor on the levels of separate pro- and anti-inflammatory cytokines of animals with experimental burn (rats of type WAG) was studied. It was revealed that under monotherapy with doxycycline, depending on the dosage up to 14th day (daily dose 30 mg/kg) and up to 21st day (daily dose 2, 5 mg/kg), pharmaco-correcting effect was achieved. It was characterized by potentiation of pro-inflammatory activity and its increase up to 28th day with achievement of referent indexes, what was not noticed in the group of animals without doxycycline treatment. Under the conditions of pharmacotherapy absence, pro-inflammatory activity raised, and anti-inflammatory - went down, without achieving corresponding average indexes in a group of intact animals.

**Key words:** matrix metalloproteinase inhibitor, pro- and anti-inflammatory activity, reparation stages of thermal injury.

*Рецензент: д.мед.н., проф. І.В.Лоскутова*

## ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЙНИЙ ЕНДОКАРДИТ ПІД ДІЄЮ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРУ

**О. Я.Беспалова**

*Національний інститут серцево-судинної хірургії  
ім. М.М. Амосова АМН України (Київ)*

#### Вступ

До теперішнього часу серцево-судинні захворювання та їх комплексне лікування є однією із актуальних проблем клінічної медицини. Особливе місце серед цих захворювань займає інфекційний ендокардит. В патогенезі розвитку інфекційного ендокардиту важливу роль відводять вивченню імунних механізмів, зокрема функціональному стану імунокомпетентних клітин. Функціональний стан імунокомпетентних клітин характеризується ступенем готовності їх до проліферації під впливом різних мітогенів, одним із яких є фітогемагглютинін (ФГА), що характеризує стан Т-лімфоцитів [1,3,8,9]. Як відомо, при багатьох хронічних захворюваннях відбувається зміна рівня лімфопроліферації. Зниження рівня бласттрансформації лімфоцитів оцінюється як несприятлива прогностична ознака і вважається індикатором післяопераційних інфекційних ускладнень. За допомогою бластної трансформації лімфоцитів *in vitro* можна визначити ступінь активності патологічного процесу, прогнозувати перебіг захворювання, контролювати ефективність проведеного лікування [5,6,7].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана згідно основного плану науково-дослідних робіт Інституту серцево-судинної хірургії ім.акад. М. М. Амосова АМН України (Київ) та є фрагментом теми "Розробити і впровадити метод термоімунокоригуючої терапії хворих на інфекційний ендокардит" (№ держреєстрації 0103U000629).

**Метою** роботи було дослідити вплив температури 39,5 °С протягом 30 хвилин *in vitro* на функціональну активність лімфоцитів в реакції бластної трансформації лімфоцитів.