

## **ВПЛИВ СИРОПУ «АМКЕСОЛ» НА РІВЕНЬ ПРОДУКЦІЇ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЗАПАЛЕННІ**

**Ключові слова:** бронхолегеневі захворювання, амкесол, протизапальні цитокіни

Бронхо-легеневі захворювання у дітей займають одне з провідних місць у структурі захворюваності в цій віковій групі. Незалежно від етіології бронхо-легеневої патології запалення відіграє ключову роль у патогенезі захворювань легенів, що призводить до гіперсекреції, порушень мукоциліарного кліренсу, розвитку бронхіальної обструкції, зниження місцевих захисних механізмів і, отже, до розвитку «хибного кола» взаємопов'язаних і взаємозумовлених чинників запалення.

Реалізація активації неспецифічних і специфічних імунних реакцій при запальних захворюваннях легенів пов'язана з впливом на різноманітні гомеостатичні системи організму цілого ряду універсальних медіаторів, серед яких особливе місце займає мережа цитокінів, які контролюють процеси реалізації імунної і запальної реактивності [1, 15]. Встановлено, що при розвитку гострого ушкодження легенів підвищується рівень прозапальних цитокінів: IL-1, 6, 8, 12, TNF  $\alpha$  [2]. Їх ефект пов'язаний з розширенням судин, збільшенням їх проникності і накопиченням рідини в тканині легенів [7], що викликає порушення капілярного кровообігу, збільшення проникності судин, індукує локальний набряк тканин. Подальша міграція лейкоцитів у вогнище запалення контролюється хемокінами, які продукуються і секретуються не лише активованими макрофагами, а й ендотеліальними клітинами, фібробластами, гладкими міоцитами [8]. Їх основна функція – залучати нейтрофіли у вогнище запалення і активувати їх функціональну активність. Основним хемокіном для нейтрофілів є IL-8 [9, 10]. Дерівати гинучих нейтрофілів – еластаза, катепсин G, протеаза, колагеназа, желатиназа, чинник активації плазміногена, вільні радикали, мієлопероксидаза, оксидаза, цитокіни, ендотоксин – сприяють розвитку «респіраторного вибуху» і можуть безпосередньо руйнувати легеневі структури (еластин, фібронектин та інші структурні білки), що сприяє формуванню бронхоектазів. Крім того, нейтрофільна еластаза – потенційний стимулятор продукції IL-8 і бронхіального секрету [16]. Клінічним проявом «хибного кола» інфекція–запалення–ушкодження тканин легенів є прогресуюче зниження легеневих функцій. Існує думка, що IL-8 є одним з найважливіших цитокінів у патофізіології гострих легеневих ушкоджень [18]. Найбільш сильним його індукторами є бактерійні ліпополісахариди, IL-1 і TNF $\alpha$  [17].

У ряді досліджень [13, 14, 20] також містяться відомості, що рівень продукції IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF $\alpha$  ендотелієм судин легенів впливає на розвиток гострого легеневого ушкодження і, вочевидь, контроль їх рівня може бути використаний у клінічній практиці для ранньої діагностики і прогнозу хронізації захворювання.

Метою даної роботи було простежити вплив нового комбінованого лікарського засобу сиропу «Амкесол» на рівень продукції прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$

та хемокіну ІІ–8 на різних етапах розвитку експериментального запалення у тварин різних вікових груп.

Сироп амкесолю (С-АКС) – новий комбінований препарат, призначений для лікування бронхо-легеневих захворювань у дітей. Раціональний склад С-АКС (амброксол, кетотифен, екстракт кореню солодки, теобромін) забезпечує політропну фармакологічну дію, що спрямована на корекцію основних ланок патогенезу патології дихальної системи. На доклінічному етапі на експериментальних моделях у С-АКС виявлено бронхолітичний, протикашльовий, протиалергічний, протизапальний і жарознижувальний ефекти, з яких дві останніх відображують додаткову активність, що виникла в результаті комплексної дії всіх компонентів [3, 4, 5].

Дослідження було виконане на 90 щурах лінії WAG обох статей раннього віку (1,2,3-місячних) з дотриманням правил роботи з лабораторними тваринами відповідно до існуючих вимог «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» [12] на моделі бронхоальвеоліту [11]. У кожній віковій серії тварин було розподілено на 3 групи: інтактні, контроль (без лікування) і групи, які щодня отримували С-АКС (0,9 мл/кг) впродовж 7 і 14 днів. Запалення викликали інгаляційним введенням Сефадекса А-25, «Pharmacia», Швеція (5 мг/кг). Для кількісного визначення прозапальних цитокінів ІІ-1 $\beta$ , ІІ-8, TNF $\alpha$  в периферичній крові використали метод імуноферментного аналізу [6], тест-система ТОВ «Укрмедсервіс» (Донецьк, Україна). Перебіг експериментального запалення було підтверджено патоморфологічно (фарбування гематоксиліном-еозином). Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми «Statistika 6.0» методом ANOVA [19].

За даними патоморфологічного дослідження на 7-му добу після введення ірританту у тварин контрольної групи розвивався переважно гострий бронхіт, нейтрофільний альвеоліт та вікарна емфізема (рис. 1). На 14-ту добу розвитку запалення нейтрофільний альвеоліт змінюється лімфоідно-гістіоцитарним (рис. 2).

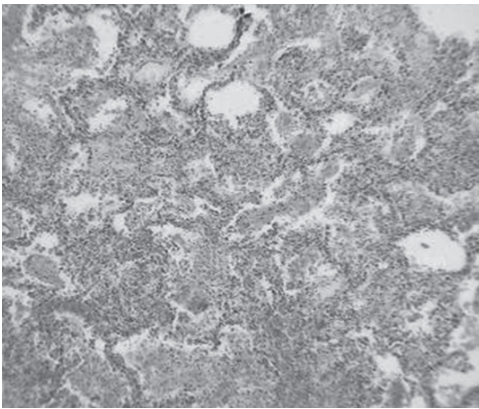


Рис. 1 Інфільтрація стінки бронхіоли 3-місячних щурів, у просвіті – секрет з великою кількістю нейтрофілів, фарбування гематоксиліном-еозином, x100

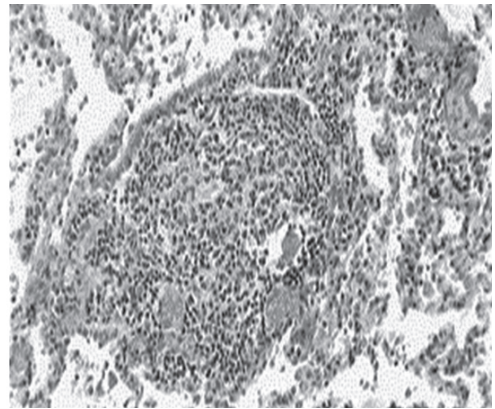
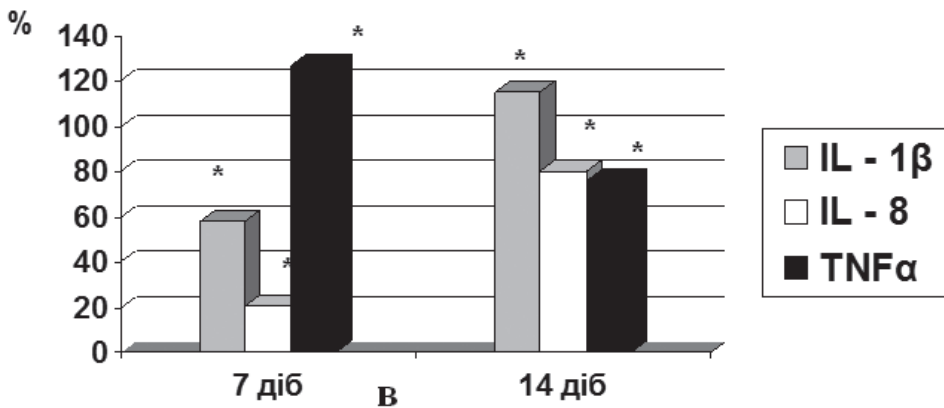
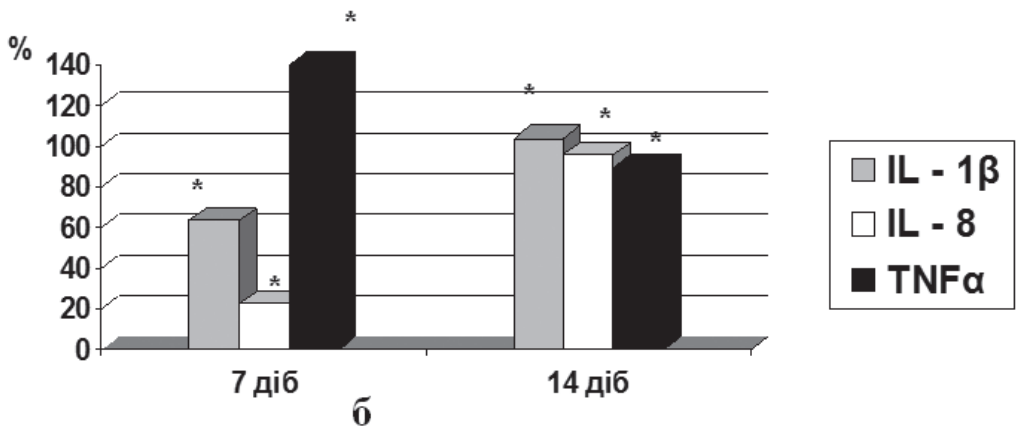
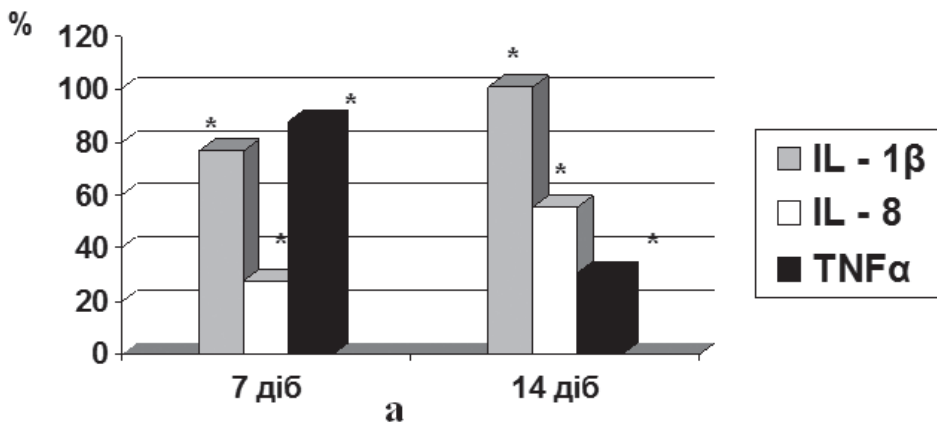


Рис. 2 Бронхіоліт з лімфогістіоцитарною інфільтрацією стінки бронхіоли у 3-місячних щурів, фарбування гематоксиліном-еозином, x100

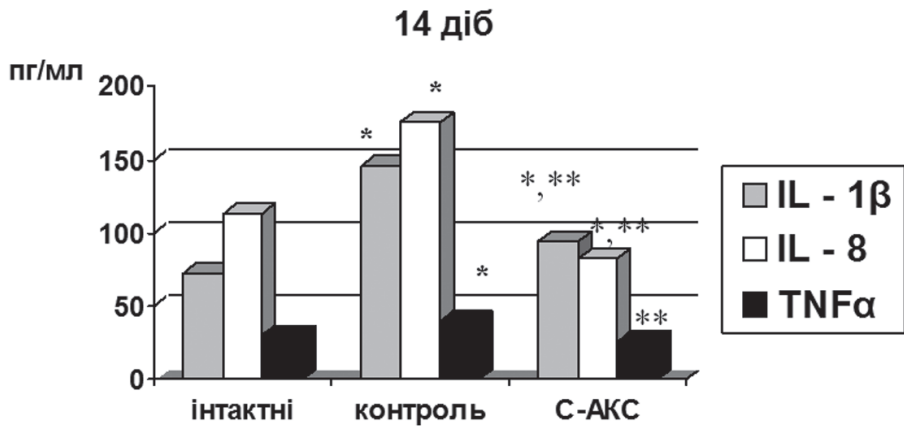
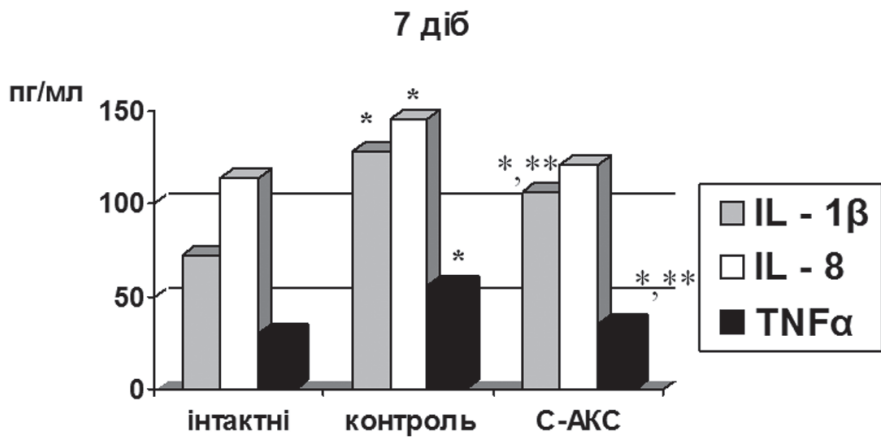
У контрольних тварин (без лікування) в усіх вікових групах спостерігалось вірогідне підвищення рівня ІІ-8 і ІІ-1 $\beta$  і TNF $\alpha$  на 7-му та 14-ту добу запалення (рис.3).



Примітка: \* -  $P < 0,05$  щодо інтактної групи.

Рис.3. Динаміка прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів з бронхоальвеолітом: а – 1-місячних; б – 2-місячних; в – 3-місячних (у відсотках)

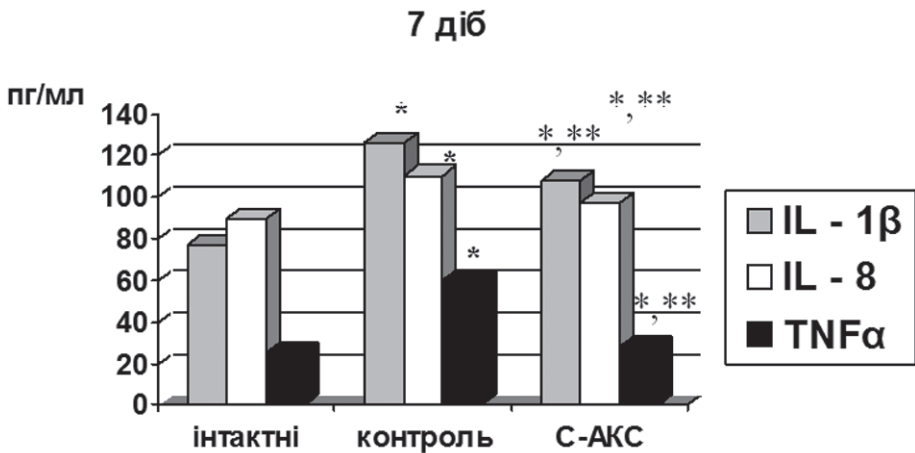
На фоні застосування С-АКС у групі одномісячних тварин спостерігалось зниження рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові (рис. 4). Так, на 7-му добу розвитку бронхоальвеоліту рівень IL-1 $\beta$  та IL-8 знижувався на 30 %, TNF $\alpha$  – на 63 % порівняно з контролем, наближаючись до рівня інтактних тварин. На 14-ту добу експериментального бронхоальвеоліту спостерігалось виражене зниження рівня IL-1 $\beta$  на 72 %, IL-8 – на 83 %, а також TNF $\alpha$  – на 47 % від показників контрольної групи.

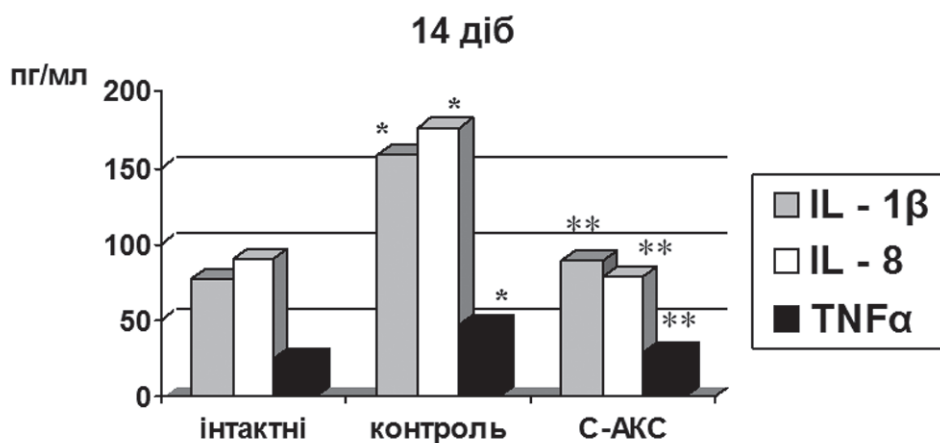


Примітка: \*P<0,05 щодо інтактної групи,  
\*\*P<0,05 щодо контролю.

Рис. 4. Вплив сиропу «Амкесол» на рівень прозапальних цитокінів у динаміці розвитку бронхоальвеоліту в групі 1-місячних щурів

У 2-місячних тварин під впливом С-АКС на 7-му добу перебігу експериментального запалення рівень IL-1β знижувався на 24 %, IL-8 – на 14,5 % і TNFα – на 77 % порівняно з контролем. На 14-ту добу спостерігається вірогідне зниження рівня IL-1β на 127 %, IL-8 і TNFα – на 97 % порівняно з контролем (рис. 5).

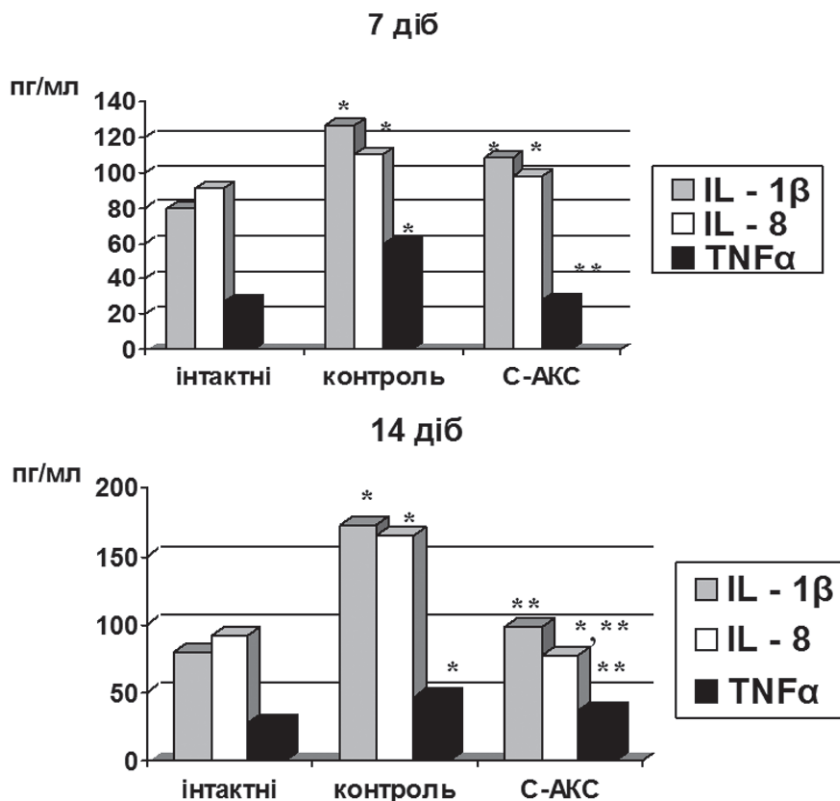




Примітка: \*P<0,05 щодо інтактної групи,  
\*\*P<0,05 щодо контролю.

Рис. 5. Вплив сиропу «Амкесол» на рівень прозапальних цитокінів у динаміці розвитку бронхоальвеоліту в групі 2-місячних щурів

Дія С-АКС в умовах експериментального бронхоальвеоліту у 3-місячних щурів також проявляється зниженням рівня IL-1β і IL-8 та TNFα, особливо на 14-ту добу експерименту (рис. 6).



Примітка: \*P<0,05 щодо контролю,  
\*\*P<0,05 щодо експериментальної патології.

Рис. 6. Вплив сиропу «Амкесол» на рівень прозапальних цитокінів у динаміці розвитку бронхоальвеоліту в групі 3-місячних щурів

Таким чином, в усіх вікових групах зниження рівню цитокінів більш виражено відбувалось відносно TNF $\alpha$  на усіх етапах запальної реакції, за винятком експерименту з 3-місячними тваринами, де на 14-ту добу ступінь зниження цього показника зменшується в порівнянні з даними на 7-му добу.

Виходячи з ролі досліджуваних цитокінів у розвитку запалення в легеневій тканині, можна припустити, що одним з механізмів протизапальної активності С-АКС є пригнічувальний вплив на індуктори запалення – IL-1 $\beta$  та TNF $\alpha$ .

#### В и с н о в к и

Отримані дані дають змогу зробити висновок, що застосування С-АКС сприятливо впливає на розвиток запального процесу, викликає зниження рівня досліджуваних прозапальних цитокінів впродовж експериментального бронхоальвеолиту: спочатку TNF $\alpha$  і надалі IL-1 $\beta$  і IL-8, що, очевидно, зменшує ризик гострого ушкодження легеневої тканини і хронізації запального процесу при бронхо-легеневих захворюваннях незалежно від віку експериментальних тварин. Надалі було б корисно вивчити вплив досліджуваного препарату на стан сполучної тканини легенів на час перебігу експериментального запалення та показники стану прооксидантно-антиоксидантної системи.

1. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами // Иммунология. – 2000. – №5. – С. 11–17.

2. Данилов Л.Н., Лебедева Е.С., Двораковская И.В., Симбирцев А.С., Илькович М.М. Влияние рецепторного антагониста ИЛ-1 на развитие оксидативного стресса в легких//Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 14–20.

3. Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Ганзий Т.В., Сыровая А.О., Миронченко С.И., Ермоленко Т.И. Экспериментальное изучение жаропонижающего эффекта амкесола Медицина сьогодні і завтра. – 2009, № 3, 4. – С. 4–10.

4. Звягинцева Т.В., Ананько С.Я., Ганзий Т.В., Кратенко А.С., Сыровая А.О., Стороженко Е.В., Трутаев И.В., Халин И.В., Черкас Л.П. Адьювантные эффекты специфической фармакодинамики комбинированного препарата для лечения бронхо-легочной патологии. XVI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», сборник материалов конгресса (тез. докл.) 6 - 10.04.2009.

5. Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Кратенко А.С., Халин И.В., Стороженко Е.В., Хинд Зейдан. Противокашлевая активность комбинированного препарата амкесол в эксперименте. XVII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», сборник материалов конгресса (тез. докл.) 6 - 10.04.2009.

6. Иммунологические методы / Под ред. Х.Фримеля. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.

7. Козлов В.А. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор: физиологическая активность, патофизиологические и терапевтические проблемы // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 3–15.

8. Лысикова М., Вальд М., Масиновски З. Механизмы воспалительной реакции и воздействие на них с помощью протеолитических энзимов // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 48–53.

9. Ляшенко А.А., Уваров В.Ю. К вопросу о систематизации цитокинов//Успехи совр. биологии. – 2001. – Т. 121, № 6. – С. 589–603.

10. Майборода А.А., Кирдей Е.Г., Семинский И.Ж., Цибель Б.Н. Иммунный ответ, воспаление // Учебное пособие по общей патологии. - М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 112 с.

11. Макарова О.В., Ковалева В.Л., Сладкопечевцев А.С. и др. Экспериментальная модель неинфекционного гранулематоза легких // Пульмонология. – 1996. – № 1. – С. 76–79.

12. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А.Ляпунова, В.А.Загоря, В.П.Георгиевского, Е.П.Безуглой. – К.:МОРИОН, 1999. – С. 508–545.

13. *Нестерова И.В., Колесникова Н.В.* Цитокиновая регуляция и функционирующая система нейтрофильных гранулоцитов // Гематология и трансфузиология. – 1999. – Т. 44, № 2. – С. 43–51.

14. *Сенников С.В., Силков А.Н., Козлов В.А.* Аллельные варианты и изоформы цитокинов в диагностике и патогенезе иммунопатологических состояний // Иммунология. – 2002. – № 4. – С. 243–247.

15. *Симбирцев А.С.* Биология семейства интерлейкина-1 человека // Иммунология. – 1998. – № 3. – С. 9–17.

16. *Симбирцев А.С.* Интерлейкин – 8 и другие хемокины // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 9–14.

17. *Симбирцев А.С.* Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 9–16.

18. *Старикова Э.А., Фрейдлин И.С., Соколов Д.И., Сельков С.А.* Изменения свойств эндотелиальных клеток линии EA.hy 926 под влиянием фактора некроза опухоли  $\alpha$ , интерферона-гамма и интерлейкина-4. Иммунология. – 2005. – Т. 26, № 2. – С. 83–87.

19. *Халафян А.А.* STATISTICA 6. Статистический анализ данных. – 3-е изд. Учебник. – М.: ООО «Бином-пресс», 2007. – 512 с.

20. *Meager A.* Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation // Cytokine and growth factor reviews. – 1999. – Vol. 10. – P. 27–39.

Надійшла до редакції 12.12.2011.

*Е.В.Стороженко*

#### ВЛИЯНИЕ СИРОПА «АМКЕСОЛ» НА УРОВЕНЬ ПРОДУКЦИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ

**Ключевые слова:** бронхо-легочные заболевания, амкесол, провоспалительные цитокины

Исследованиями на крысах разного раннего возраста с экспериментальным бронхоальвеолитом установлено влияние сиропа «Амкесол» на уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови.

Результаты исследования свидетельствуют о фармакологической эффективности сиропа «Амкесол» и перспективности последующих исследований с целью изучения влияния на основные патогенетические звенья бронхо-легочных заболеваний.

*К. V. Storozhenko*

#### EFFECT OF SYRUP AMKESOL ON THE LEVEL OF PRODUCTION PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN EXPERIMENTAL INFLAMMATION

**Key words:** broncho-pulmonary diseases, amkesol, proinflammatory cytokines

#### SUMMARY

Studies in rats of different age groups of children with an experimental set of bronchoalveolitis influence of syrup amkesol on the level of proinflammatory cytokines in the serum.

These results indicate the effectiveness of syrup amkesol and prospects of further research to study the influence of basic pathogenetic links of broncho-pulmonary diseases