УДК: 616.24-002:615.351: 615.322: 615.3

ИЗМЕНЕНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Турсунов Джахангир Хусанович - Ph.D., доцент
Сабирова Рихси Абдукадировна - д.м.н., профессор
Ташкентская медицинская академия (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация*. В статье рассматриваются изменения уровня цитокинов в крови при экспериментальной интерстициальной пневмонии и возможности их коррекции с использованием экдистена, полиоксидония и ацетилцистеина. Проведён анализ влияния данных препаратов на воспалительный процесс и цитокиновый баланс.*

Ключевые слова: *интерстициальная пневмония, цитокины, воспаление, иммунный ответ, экспериментальная модель, экдистен, полиоксидоний, ацетилцистеин (АЦЦ), антиоксидантная терапия, иммуномодуляция*

EKSPERIMENTAL INTERSTITSIAL PNEVMONIYADA QON SITOKINLARI O‘ZGARISHI VA ULARNING KORREKSIYASI

Tursunov Djaxangir Husanovich - Ph.D., dotsent
Sabirova Rixsi Abduqodirovna - t.f.d., professor
Toshkent tibbiyot akademiyasi (Toshkent, O‘zbekiston)

Summary. *The article examines changes in blood cytokine levels in experimental interstitial pneumonia and the potential for their correction using ecdysterone, polyoxidonium, and acetylcysteine. The impact of these drugs on the inflammatory process and cytokine balance is analyzed.*

Key words: *interstitial pneumonia, cytokines, inflammation, immune response, experimental model, ecdysterone, polyoxidonium, acetylcysteine (ACC), antioxidant therapy, immunomodulation.*

CHANGES IN CYTOKINE LEVELS IN BLOOD DURING EXPERIMENTAL INTERSTITIAL PNEUMONIA AND THEIR CORRECTION

Tursunov Djakhangir Khusanovich - Ph.D., associate professor
Sabirova Rikhsi Abdukadirovna - D.M.Sc., professor
Tashkent Medical Academy (Tashkent, Uzbekistan)

Annotatsiya. *Maqolada eksperimental interstitsial pnevmoniyada qon sitokinlari darajasidagi o‘zgarishlar va ularni ekdisten, polioksidoniy va atsetilsistein yordamida tuzatish imkoniyatlari ko‘rib chiqilgan. Ushbu preparatlarning yallig‘lanish jarayoni va sitokin balansiga ta’siri tahlil qilindi.*

Kalit so‘zlar: *interstitsial pnevmoniya, sitokinlar, yallig‘lanish, immun javob, eksperimental model, ekdisten, polioksidoniy, atsetilsistein (ASS), antioksidant terapiya, immunomodulyatsiya*

Интерстициальная пневмония представляет собой группу воспалительных заболеваний лёгких, характеризующихся преимущественным поражением интерстициальной ткани с развитием фиброза и нарушением газообмена. Развитие воспалительного процесса сопровождается активацией иммунной системы и изменением уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови. Дисбаланс цитокинов играет ключевую роль в прогрессировании заболевания, определяя тяжесть воспалительной реакции и возможные осложнения [13].

Одним из перспективных направлений терапии интерстициальных поражений лёгких является коррекция цитокинового профиля с использованием иммуномодулирующих и антиоксидантных препаратов. В настоящем исследовании в качестве средств коррекции использовались экдистен, полиоксидоний и ацетилцистеин (АЦЦ) как по отдельности, так и в комбинации. Экдистен – природный адаптоген, обладающий противовоспалительными и антиоксидантными свойствами. Полиоксидоний является иммуномодулятором, способствующим нормализации иммунного ответа. Ацетилцистеин – муколитик с выраженной антиоксидантной активностью, способствующий снижению воспаления и защите клеток от окислительного стресса.

Целью настоящего исследования является оценка изменений уровня цитокинов в крови при экспериментальной интерстициальной пневмонии и эффективности её коррекции с помощью экдистена, полиоксидония и ацетилцистеина в различных комбинациях.

Литературные данные свидетельствуют о диагностической и прогностической значимости измерения уровня цитокинов в сыворотке крови, жидкости бронхоальвеолярного лаважа и супернатантах культур клеток крови с учетом этиологических факторов, условий травмы и тяжести патологического процесса [1]. В последние десятилетия открытие цитокинов и их регулирующей роли в иммунном ответе определили приоритеты их исследования при различных патологических процессах. Свойства цитокинов и функционирование цитокиновой сети подробно описаны в публикациях последних лет среди которых значительное место занимают исследования роли цитокинов при болезнях органов дыхания [3, 4, 15, 16]. Цитокины вовлекаются в инфекционно-воспалительный процесс на уровне собственно иммунных механизмов и эффекторного звена, во многом определяя направление, тяжесть и исход патологического процесса.

В связи с вышеизложенными в данной работе приводятся результаты исследования цитокинов при развитии интерстициальной пневмонии и его коррекции.

Материал и методы исследования. Для исследования использованы 64 белые беспородные крысы, массой тела 150 – 200 г, у которых вызывали интерстициальную пневмонию путём хронического воздействия табачного дыма в специальной камере Курляндского в течение 2 месяцев [14]. Все исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1986).

Крысы распределены по группам следующим образом:

I группа. Интактные крысы - с которыми не проводились манипуляции;

II группа. Контрольная – крысы с пневмонией получали 2 мл очищенной воды.

III группа. Опытные – крысы в этой группе получали водный раствор экдистена в дозе 2,4 мг на 100 гр массы тела на фоне пневмонии;

IV группа. Опытные – крысы в этой группе получали водный раствор ацетилцистеин - АЦЦ в дозе 1,9 мг на 100 гр массы тела на фоне пневмонии;

V группа. Опытные – крысы в этой группе получали водный раствор полиоксидоний в дозе 33,3 мг на 100 гр массы тела на фоне пневмонии;

VI группа. Опытные – крысы в этой группе получали комбинированное лечение экдистен + ацетилцистеин на фоне пневмонии;

VII группа. Опытные – крысы в этой группе получали комбинированное лечение экдистен + полиоксидоний на фоне пневмонии;

VIII группа. Опытные – крысы в этой группе получали комбинированное лечение экдистен+ацетилцистеин+полиоксидоний на фоне пневмонии.

После завершения затравки, кроликов декапитировали и забирали кровь. Кровь стабилизировали 3,8% ным раствором цитрата натрия в соотношении 1:9.

Препараты вводили после получения модели интерстициальной пневмонии в течение 15 суток один раза в день per os.

Цитокиновый анализ: Концентрация цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНОα и ИЛ-10 в сыворотке крови белых крыс определялась методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием тест-системы, совместимой с иммуноферментным анализатором MR-96 A (Mindray). Все анализы проводились в соответствии с инструкциями производителя тест-систем и анализатора.

Иммуноферментный анализ: В стандартные 96-луночные планшеты добавляли антитела, которые связывались с определёнными цитокинами (ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНОα и ИЛ-10) в образцах. После инкубации с образцами и стандартами проводилась серия промываний, удаления несвязанного материала и добавления субстрата, который изменяет цвет в зависимости от концентрации цитокина. Цветное изменение измерялось с помощью спектрофотометра на иммуноферментном анализаторе MR-96 A. Концентрация цитокинов в образцах определялась по калибровочной кривой, построенной на основе стандартных растворов. Результаты анализировались и представлялись в пикограммах на миллилитр (pg/ml).

Результаты исследования и их обсуждение.

Нет единого мнения, какие из цитокинов играют основную патогенетическую роль в развитии пневмонии, в том числе, в зависимости от этиологии последней. Одним из интересных направлений стало исследование концентрации интерлейкина 6 (ИЛ-6). Его патофизиологическая роль хорошо изучена: ИЛ-6 увеличивает продукцию коллагена, стимулируя фибробласты, дифференцировку миофибробластов и подавляет секрецию матриксных металлопротеиназ (ММП), обеспечивающих в норме деградацию экстрацеллюлярного матрикса [2,9].

Изучая патогенетическую роль цитокинов при пневмонии, вызванной грамотрицательной бактериальной флорой в эксперименте на мышах, доказали, что TNFa является решающим компонентом защиты, эта роль TNFa опосредуется через рецептор 55 на клетках-мишенях [5].

IL-10 ослабляет местный воспалительный ответ в легких и препятствует эффективному обезвреживанию инфекции, уменьшая выживаемость животных в эксперименте. Подобные результаты получены и P.M.Jansen с соавторами [12]. Возможные негативные последствия повышения уровня сывороточного IL-10 связывают со снижением экспрессии HLA DR антигенов на мембране моноцитов, что, как известно, нарушает процессы иммунологического распознавания [11].

Цитокины участвуют в воспалительных легочных заболеваниях, но их патогенная роль и диагностическая значимость содержания в бронхолегочном лаваже противоречивы [6]. Авторы установили, что альвеолярные макрофаги являются главными продуцентами IL-8 и легких, а пневмонии характеризуются резким повышением синтеза и секреции провоспалительных цитокинов IL-8, IL-6 и TNFB в альвеолярном пространстве. Уровни последних при пневмонии значительно выше таковых при хронических обструктивных заболеваниях легких. Напротив, продукция альвеолярными макрофагами цитокина с противовоспалительной активностью IL-10 повышена у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких [10].

В контрольной группе животных с интерстициальной пневмонией установлено значительное увеличение провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β в 2 раза, ИЛ-6 в 4 раза, ФНОα почти в 2 раза), что указывает на выраженный воспалительный процесс. При этом уровень противовоспалительного ИЛ-10 снижается более чем в 2 раза, что подтверждает дисбаланс воспалительного ответа (рис).

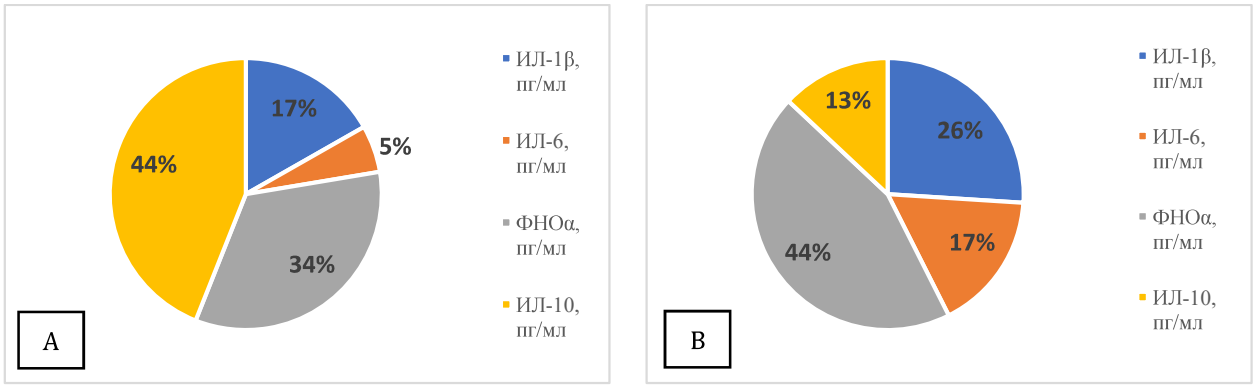


Рис. **Изменение содержания цитокинов у крыс интерстициальной пневмонией**

А интактная группа В контрольная группа

Как видно, из данных таблицы экдистен (III группа) снижает уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β на 36%, ИЛ-6 почти в 2 раза, ФНОα на 26%) и повышает уровень ИЛ-10, приближая его к значению здоровых крыс. Это свидетельствует о противовоспалительном и иммуномодулирующем действии препарата.

Таблица

Уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНОα и противовоспалительного ИЛ-10 в крови у крыс на фоне пневмонии и под влиянием исследуемых лекарственных препаратов (n=12)

№	Группа животных	Показатели			
		ИЛ-1β, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл	ФНОα, пг/мл	ИЛ-10, пг/мл
1.	I гр. Интактные	2,1 ± 0,2	0,7 ± 0,05	4,2 ± 0,4	5,5 ± 0,4
2.	II гр. Контроль пневмония	4,4 ± 1,2 P<0,05	2,8 ± 1,2 P<0,05	7,5 ± 0,8 P<0,05	2,2 ± 0,2 P<0,05
3.	III гр. экдистен + пневмония	2,8 ± 0,3 P<0,05	1,5 ± 0,2 P<0,05	5,5 ± 0,5 P<0,05	4,2 ± 0,5 P<0,05
4	IV гр. АЦЦ + пневмония	3,5 ± 0,4 P<0,05	2,2 ± 0,4 P<0,05	6,2 ± 0,7 P<0,05	5,2 ± 0,4 P<0,05
5.	V гр. полиоксидоний + пневмония	2,5 ± 0,2 P<0,05	1,6 ± 0,3 P<0,05	5,8 ± 0,4 P<0,05	4,4 ± 0,3 P<0,05
6.	VI гр. экдистен + ацетилцистеин + пневмония	2,7 ± 0,3 P<0,05	1,5 ± 0,5 P<0,05	5,3 ± 0,3 P<0,05	4,2 ± 0,4 P<0,05
7.	VII экдистен + полиоксидоний + пневмония	2,7 ± 0,3 P<0,05	1,5 ± 0,5 P<0,05	5,3 ± 0,3 P<0,05	4,2 ± 0,4 P<0,05
8.	VIII гр. экдистен+ ацетилцистеин+ полиоксидоний +пневмония	2,5 ± 0,3 P<0,05	1,1 ± 0,6 P<0,05	4,7 ± 0,4 P<0,05	4,8 ± 0,5 P<0,05

В группе крыс, получавших АЦЦ (IV группа) также наблюдалось снижение уровней провоспалительных цитокинов, но менее выраженно, чем в группе, получавших экдистен. Однако уровень ИЛ-10 становится даже выше, чем в интактной группе, что указывает на возможное усиление противовоспалительного ответа.

Полиоксидоний (V группа) понижает ИЛ-1β и ИЛ-6 до значений, близких к норме, а ФНОα остается умеренно повышенным. ИЛ-10 увеличивается, но не так сильно, как при применении АЦЦ.

Экдистен + АЦЦ (VI группа) оказывает комбинированный эффект, снижая ИЛ-1β и ФНОα даже более выраженно, чем при применении каждого препарата отдельно. ИЛ-10 также повышается, свидетельствуя о нормализации воспалительного ответа.

В VII группе сочетание экдистена и полиоксидония снизило содержание ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНОα на 38,6; 46,4 и 29,3% соответственно по сравнению с контрольной группой, а ИЛ-10 повысился на 91%.

Комбинация препаратов экдистена + АЦЦ + Полиоксидония (VIII группа) даёт наилучший эффект, приводя уровни провоспалительных цитокинов к почти нормальным значениям. ИЛ-6 падает наиболее значительно (на 60% относительно контрольной группы), а ИЛ-10 достигает максимального уровня.

Таким образом, все исследуемые препараты оказывают противовоспалительное действие, снижая уровни ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНОα и повышая ИЛ-10. Однако, наиболее выраженный эффект наблюдается при комбинированной терапии экдистен + АЦЦ + полиоксидоний, что подтверждает синергетический эффект препаратов в коррекции воспаления.

Результаты исследования показали, что экдистен, полиоксидоний и ацетилцистеин оказывают выраженное влияние на цитокиновый баланс при экспериментальной интерстициальной пневмонии. Применение данных препаратов как по отдельности, так и в комбинации способствует снижению уровня провоспалительных цитокинов и нормализации иммунного ответа. Наиболее выраженный терапевтический эффект наблюдается при их комбинированном применении, что позволяет рассматривать данный подход как перспективный метод коррекции воспалительных процессов при интерстициальных заболеваниях лёгких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bona C., Bonilla F. Textbook of immunelogy (second Ed.): Harword Acad. Publ, Amsterdam, 1996. - 406 p.

2. Eboriadou M., Hatzistilianou, Haidopoulou K., Zarvali A., Agouridaki C., Tsavdaridou V., Varlamis G. Serum levels of IL-6,11-8 and IL-12 cytokines in children with pneumonia. // Europ. Resp. J. - 1998.- Vol. 12, N28 - P.1365.

3. Janeway Ch.A., Travers P. Immunobiology. London: Current Biology Ltd, 1994. - 480 p.

4. Johnson T.R., Graham B.S. Secreted respiratory syncytial virus G glycoprotein induced interleukin-5 (IL-5), IL-13, and eosinophilia by an IL-4-independent mechanism. // J. of Virology. - 1999. - Vol.73, N10. - P.8485-8495.

5. Johnson T.R., Graham B.S. Secreted respiratory syncytial virus G glycoprotein induced interleukin-5 (IL-5), IL-13, and eosinophilia by an IL-4-independent mechanism. // J. of Virology. - 1999. - Vol.73, N10. - P.8485-8495.

6. Kawaguchi Y. Contribution of interleukin-6 to the pathogenesis of systemic sclerosis. J Scleroderma Relat Disord 2017;2(2):6–12. DOI: 10.5301/jsrd.5000258.

7. Ogura H., Cioffi W.G., Offner P.J. Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary function after sepsis in a swine model. // Surgery. -1994. -Vol.166, N2. - P.313-321.

8. Thomson A. (Ed.) The Cytokine Handbook. London: Acad. Press., 1992. -418 p.

9. DK Tursunov, RA Sabirova, MU Kulmanova The Effect of Ecdystene on the Activity of Matrix Metalloproteinases in Experimental Alloxan Diabetes in Rats - BioNanoScience, 2021

10. Vanderpoll T., Marchant A., Keogh C.B., Goldman M., Lowry S.F. Interleukin-10 Impairs Host-Defense in Murine Pneumococcal Pneumonia. // J. Infectious Diseases. - 1996. - Vol.174, N5. - P. 994-1000.

11. Xie Q.W., Kashiwarbara Y., Nathan C. Role of Transcription factor NF-kB/Rel in induction of nitric oxide synthase. // J. Biol. Chem. -1994. - Vol. 269. - P.4705-4708.

12. Вестник ассоциации пульмонологов центральной азии. 2020; выпуск 18 (№1-4), С.22-26.)

13. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Борисова А.М., Голубева Н.М., Ханухова Л.М. Действие цитокинов на генерацию активных форм кислорода фагоцитами легких и периферической крови. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. -1998. - Т.126, №10.

13 Маркелова Е.В., Просекова Е.В., Недобыльский О.В. Роль цитокинов в патогене пневмоний Мед.Иммунал., 2000, т.2, N 4, стр. 369-375)

14. Каюмова Ю.Д., Таджиходжаева Ю.Х. Экспериментальная модель хронической обструктивной болезни лёгких с табакокурением в изучении мембранодеструктивных процессов // Вестник ассоциации пульмонологов центральной азии. 2020; выпуск 18 (№1-4), С.22-26.

15. Путов Н.В., Симбирцев С.А. Клинические и экспериментальные аспекты пульмонологии. // Вести. РАМН. - 1998. - №1. - С.34-38. С.440-443.

16. Фрейдлин И.С. Дефекты цитокиновой сети и принципы их коррекции. // Иммунология. - 1998.- №1. - С.23-25.