

УДК 612.017.062

**ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ГАЛАВІТ НА
ЦИТОКІНОВИЙ ДИСБАЛАНС ПРИ
ОПРОМІНЕННІ ЩУРІВ ЛІНІЇ W1STAR НА
МОДЕЛІ ІНФЕКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ**

**Бруснік С.В., Михайличенко М.С., Єгошина В. О.,
Болховітінова А.І., Коляда О.Н.**

**ДУ «Інститут мікробіології та імунології
ім. І.І. Мечникова АМНУ»**

На даний момент відмічається тенденція росту хронічних захворювань людини як бактеріальної, так і вірусної природи. Збалансована робота імунної системи, що необхідна для забезпечення гомеостазу організму, захисту макроорганізму від різноманітних екзогенних та ендогенних патогенів, внаслідок різних причин може порушуватися. Зниження функціональної активності основних компонентів імунної системи, що призводить до порушення захисту організму від мікробів та супроводжується захворюваністю, в теперішній час розглядається як імунодефіцитний стан. В залежності від наявності або відсутності дефекту одного або декількох компонентів імунної системи (фагоцитозу, клітинного, гуморального імунітету) імунодефіцити підрозділяють на первинні (присутній уроджений генетичний дефект) та вторинні. В останній час виділяють три форми вторинних імунодефіцитів (ВІД): набуті, індуковані (наявна конкретна причина, що викликала цей стан: терапія цитостатиками, хірургічне втручання і т.п.) та спонтанні (відсутня явна причина, що викликала порушення імунної реактивності) [1]. Реалізація головних функцій імунної системи здійснюється через специфічні та неспецифічні фактори захисту, що взаємодіють між собою. Важливу роль в неспецифічній імунній відповіді відіграють нейтрофіли, моноцити, макрофаги, що вивільнюють медіатори запалення після контакту із мікроорганізмами, що призводить до активації ряду гуморальних систем захисту і надалі до включення реакції лімфоцитів, тобто формуванню специфічної імунної відповіді на даний конкретний патоген, із власним тільки йому набором антигенів. Антиген специфічні та неспецифічні фактори діють у тісному взаємозв'язку, і їх значення в формуванні імунної відповіді часом важко розмежувати [1-3].

Таким чином, наявність імунних дисфункцій, при котрих страждає, як специфічна, так і неспецифічна імунна відповідь, може слугувати причиною вторинної імунної недостатності та призводить до дебютування або поважчання перебігу хронічних бактеріальних та вірусних захворювань [3].

Застосування етіопатогенетичної терапії не призводить до очікуваного позитивного ефекту, що обумовлює необхідність застосування імунотропних препаратів.

Одним із напрямків, що підвищує ефективність етіопатологічної терапії інфекційних захворювань на даний момент є використання імунотропних препаратів і всебічне вивчення впливу цих препаратів на різні ланки імуногенезу для наступного спрямова-

ного та диференційованого включення їх у схеми лікування імунокомпрометованих хворих.

Імуномодуючий препарат Галавіт® підвищує функціональну активність нейтрофілів, посилює фагоцитоз та стимулює неспецифічну резистентність організму до інфекційних хвороб [4 - 6], зворотно інгібує синтез гіперактивними макрофагами фактору некрозу пухлин, інтерлейкіну 1, активних форм кисню та інших прозапальних цитокінів [5 - 12].

Метою нашого дослідження було проаналізувати вплив Галавіту® на показники неспецифічної резистентності та деяких цитокінів.

Матеріали та методи

Для вирішення поставленої мети в дослідженнях використовували щурів лінії Wistar віком 30 діб, масою 50 – 70 г, котрих було розподілено на 8 груп по 11 тварин у кожній: перша група – тварини, що були постнатально опромінені та отримували Галавіт®; друга група – група постнатально опромінені тварин в дозі 1 Гр; третя група - інфіковані *S.typhimurium* в дозі 5×10^8 КУО та отримували Галавіт®; четверта група – група інфікованих *S.typhimurium* тварин. П'яту дослідну групу склали опромінені та інфіковані тварини, котрим вводили імуномодуючий препарат Галавіт® на протязі п'яти діб. Шосту групу склали опромінені та інфіковані щури. Сьому – інтактні тварини, котрим вводили Галавіт®. Тварини восьмої групи були інтактними.

В ході виконання роботи нами був використаний наступний метод дослідження: визначення концентрації в крові цитокінів ФНП- α , ІФН- γ та ІЛ-4 оцінювали методом імуноферментного аналізу з використанням діагностичних імуноферментних тест-систем „Вектор-Бест (Росія)”. Принцип методу на прикладі визначення ФНП- α заключається в наступному:

- На першій стадії аналізу дослідні та контрольні зразки інкубують в лунках із іммобілізованими антитілами. Альфа-ФНП, що знаходиться в зразках зв'язується з іммобілізованими антитілами. Матеріал, що не зв'язався видаляється відмивкою. Альфа-ФНП, що зв'язався взаємодіє при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла до альфа-ФНП людини з біотином).

- Кон'югат №1, що не зв'язався видаляється відмивкою. На третій стадії кон'югат №1, котрий зв'язався взаємодіє при інкубації з кон'югатом №2 (стрептавідин із пероксидазою хрину). Після третьої відмивки кількість кон'югату № 2, що зв'язався визначають кольоровою реакцією із використанням субстрату пероксидази хрину – перекис водню та хромогену-тетраметилбензидину. Реакцію зупиняють додаванням розчину стоп-реагенту та вимірюють оптичну щільність розчинів у лунках при довжині хвилі 450 нм на імуноферментному аналізаторі. Інтенсивність жовтого окрашування пропорційна кількості присутнього в зразку альфа-ФНП.

Результати та обговорення

До виражених позитивних змін в імунному статусі опромінених тварин на фоні введення досліджуваного препарату слід віднести наявність тенденції до зменшення дисбалансу в цитокиновому профілі, найбільш виражене у тварин п'ятої групи: на тлі помірного зниження рівня ФНП- α - (73,4 \pm 6,5) пг/мл vs

(94,0 \pm 13,1) пг/мл, ($p < 0,05$) спостерігалось суттєве підвищення рівня ІЛ-4 - (68,2 \pm 5,8) пг/мл vs (17,9 \pm 1,2) пг/мл, ($p < 0,01$). При цьому співвідношення ФНП α /ІЛ4 зменшилось з 5,25 до 1,2 (табл. 1).

Таблиця 1 – Концентрація цитокинів у щурів при лікуванні Галавітом

Показники	M/m	Перша група (n=9)	Друга група (n=9)	Третя група (n=9)	Четверта група (n=9)	П'ята група (n=9)	Шоста група (n=9)	Сьома група (n=9)	Восьма група (n=9)
ФНП- α , пг/мл	M	40,1	42,2	104,2	111,8	73,4 ¹	94,0	38,9	39,1
	m	($\pm 0,1$)	($\pm 1,3$)	($\pm 7,4$)	($\pm 7,0$)	($\pm 6,5$)	($\pm 13,1$)	($\pm 1,2$)	($\pm 1,3$)
ІФН- γ , пг/мл	M	27,9	29,3	39,3 ¹	42,9	37,4	32,7	30,1	26,1
	m	($\pm 5,1$)	($\pm 1,8$)	($\pm 4,9$)	($\pm 3,1$)	($\pm 2,4$)	($\pm 1,6$)	($\pm 1,5$)	($\pm 0,9$)
ІЛ-4, пг/мл	M	36,2 ¹	21,1	90,1 ¹	100,1	68,2 ²	17,9	36,1	35,8
	m	($\pm 5,4$)	($\pm 2,6$)	($\pm 6,5$)	($\pm 7,7$)	($\pm 5,8$)	($\pm 1,2$)	($\pm 2,2$)	($\pm 1,5$)

Примітки: 1 - достовірність відмінностей від контрольної групи $p < 0,05$; 2 - достовірність відмінностей від контрольної групи $p < 0,01$; n – абсолютна кількість тварин.

Достовірне зростання концентрації ІЛ-4 імовірно є опосередкованим ефектом, оскільки в групі інтактних тварин, що отримували Галавіт® (сьома група), змін в цьому напрямку не спостерігалось: (36,1 \pm 2,2) пг/мл vs (35,8 \pm 1,5) пг/мл, а в групі інфікованих неопромінених тварин (третя), що не мали порушень в цитокиновому профілі за співвідношенням ФНП α /ІЛ4, навіть спостерігалось певне його зниження - (90,1 \pm 6,5) пг/мл vs (100,1 \pm 7,7) пг/мл, ($p < 0,05$), пропорційне одночасному зниженню рівня ФНП- α - (104,2 \pm 7,4) пг/мл vs (111,8 \pm 7,0) пг/мл.

Не спостерігалось достовірного підвищення рівня ІФН- γ під впливом Галавіту у тварин, що були інфіковані - (39,3 \pm 4,9) пг/мл в порівнянні з контролем (42,9 \pm 3,1) пг/мл, ($p < 0,05$). У тварин четвертої групи – інфіковані та постнатально опромінені – також відмічено достовірне підвищення цього показника – (42,9 \pm 3,1) пг/мл, ($p < 0,01$). Особливе підвищення інтерферону- γ було виявлено під впливом Галавіту у постнатально опромінених тварин на тлі інфікування *S. typhimurium*.

Висновки

Розроблену модель, що відтворює радіаційно-індукований імунодефіцит, використано для оцінки терапевтичної ефективності імуномодулятора Галавіт за умов інфекційного навантаження *S. typhimurium*.

Вплив Галавіту на процес формування неспецифічної імунної відповіді у опромінених тварин, імовірно пов'язаний зі стимуляцією моноцитарно-макрофагальної ланки імунітету та його протизапальною дією, що забезпечувало відновлення балансу ФНП- α /ІЛ-4 та ІФН- γ .

Список літератури

1. Хаитов Р.М. Вторичные иммунодефициты: клиника, диагностика, лечение / Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. // Иммунология. – 1999. - №1. – С. 14 – 17.
2. Хаитов Р.М. Иммунология. Учебная литература для студентов / Хаитов Р.М., Сидорович И.Г., Игнатъева Г. - М.: Медицина, 2000. - 429 с.

3. Ярилин А.А. Основы иммунологии / Ярилин А.А. - М.: Медицина, 1999.
4. Латышева Т.В. Новые возможности направленной иммунологической коррекции на примере отечественного иммуномодулятора «Галавит» / Латышева Т.В., Щербакова О.А. // Российский аллергологический журнал. – 2004. - №1. – С. 1 – 4.
5. Галавит. Клиническое использование и механизмы действия. М., 2002.
6. Rauchfuss E. The immunomodulator GALAVIT – a new hope for cancer patients ? / Rauchfuss E. // Achievements in science & technology of research in black sea region. – 2001. – P. 46 – 48.
7. Подколзин А.А. Коррекция ферментов антиоксидантной системы старых мышей новым иммуномодулятором «Галавит» / Подколзин А.А., Донцов В.И., Бабижаева О.М. // Ежегодник национального геронтологического центра. – 2001. – вып. 4. – С. 81 – 83.
8. Nelyubov M.V. Cytokins in the genesis of astrakhan spotted fever and North Asian scrub typhus: problems of immunocorrection / Nelyubov M.V. // Bull. Exp. Biol. Med. – 2002. - № 134(2). – P. 165 – 167.
9. Машилов В.П. Исследование терапевтической активности Галавита в клиническом отделе ЦНИИ эпидемиологии / Машилов В.П. // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1999. – Т.127. – С. 14 – 15.
10. Турьянов М.Х. Испытание Галавита в лечении больных с кишечной инфекцией на кафедре инфекционных болезней Российской медицинской академии последипломного образования / Турьянов М.Х. // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1999. – Т.127. – С. 9 – 10.
11. Петров В.Н. Влияние Галавита на уровень хемилюминисцентной активности мононуклеаров и гранулоцитов онкологических больных / Петров В.Н., Цыб А.Ф., Каплан М.А. // Международный медицинский журнал. – 2001. - № 5. – С. 17 – 420.
12. Нагоев Б.С. Галавит в терапии острых кишечных инфекций / Нагоев Б.С., Князев Р.П., Лютов Р.В. // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1999. – Т.127. – С. 18 – 21.

УДК 612.017.062

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ГАЛАВИТ НА ЦИТОКИНОВЫЙ ДИСБАЛАНС ПРИ ОБЛУЧЕНИИ КРЫС ЛИНИИ W1STAR НА МОДЕЛИ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Брусник С.В., Михайличенко М.С., Егошина В. А., Болховитинова А.И., Коляда О.Н.

Проведены экспериментальные исследования влияния низкой интенсивного γ -облучения на факторы антиинфекционной резистентности у животных. В работе представлены данные о действии иммуномодулирующего препарата Галавит на такие показатели резистентности, как уровни цитокинов - концентрация ИЛ-1, ФНО- α и γ -ИФН; при различных дозах антенатального и постнатального облучения. Так показано, что Галавит оказывает позитивное влияние на течение инфекционного процесса, вызванного *Salmonella typhimurium* на фоне общего однократного постнатального облучения в дозе 1 Гр, увеличивая скорость элиминации возбудителя.

Ключевые слова: Галавит, иммуномодуляция, неспецифическая резистентность, γ -облучение.

tion in the dose of 1 Gy positively. In particular, galavit stimulates the non-specific defence factors and cytokines.

Key words: Galavit, immunomodulation, non-specific defence, γ -irradiation.

УДК 612.017.062

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ГАЛАВИТ НА ЦИТОКИНОВИЙ ДИСБАЛАНС ПРИ ОПРОМІНЕННІ ЩУРІВ ЛІНІЇ W1STAR НА МОДЕЛІ ІНФЕКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ

Брусник С.В., Михайличенко М.С., Егошина В. О., Болховитинова А.И., Коляда О.М.

Проведено експериментальні дослідження впливу низько інтенсивного γ -опромінення на фактори протиінфекційної резистентності у тварин. В роботі представлені дані щодо дії імуномодулюючого препарату Галавіт на такі показники резистентності, як рівні цитокинів – концентрація ІЛ-4, ФНП- α та γ – ІФН, при різних дозах антенатального та постнатального опромінення. Так, було показано, що Галавіт позитивно впливає на перебіг інфекційного процесу, що викликаний *Salmonella typhimurium* на тлі загального одноразового опромінення в дозі 1 Гр, прискорюючи швидкість елімінації збудника.

Ключові слова: Галавіт, імуномодуляції, неспецифічна резистентність, γ -опромінення.

УДК 612.017.062

INFLUENCE OF GALAVIT ON CYTOKINE DISBALANCE AT AN IRRADIATED W1STAR - RATS ON MODEL OF INFECTIOUS PROCESS

Brusnik S.V., Mikhailichenko M.S., Egoshina V.O., Bolchovitinova A. I., Kolyada O.N.

The influence of low-dose γ -irradiation on the anti-infectious resistance factors in animals was studied. The present work displays some data concerning the influence of immunomodulator agent Galavit on such parameters, as cytokines levels (IL-4, TNF- α and IFN- γ concentrations), in antenatal or postnatal irradiation of different intensity. It was shown that Galavit influence the course of infectious process, caused by *Salmonella typhimurium* and developing against a background of antenatal irradiation