

©Ю. Б. Якимчук

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТУ НА РІВЕНЬ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КАЛЬЦІЙ ФОЛІНАТОМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ЩУРАХ

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТУ НА РІВЕНЬ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КАЛЬЦІЙ ФОЛІНАТОМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ЩУРАХ. На експериментальній моделі позаматкової вагітності було проведено вивчення рівня циркулюючих імунних комплексів при одноразовому і дворазовому введенні метотрексату. Результати досліджу показали, що цей показник значно підвищувався в групах щурів, яким вводився лише цитостатик. Тоді як лікування кальцій фолінатом засвідчило зниження рівня циркулюючих імунних комплексів у дослідних тварин.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТА НА УРОВЕНЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ И ИХ КОРРЕКЦИЯ КАЛЬЦИЙ ФОЛИНАТОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ. На экспериментальной модели внематочной беременности было проведено изучение уровня циркулирующих иммунных комплексов при однократном и двукратном введении метотрексата. Результаты опыта показали, что этот показатель значительно повышался в группах крыс, которым вводился только цитостатик. Тогда как лечение кальций фолинатом показало снижение уровня циркулирующих иммунных комплексов у опытных животных.

THE INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF METHOTREXATE ON THE LEVEL OF CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES AND THEIR CORRECTION BY CALCIUM FOLINATE IN EXPERIMENTS ON RATS. In an experimental model of ectopic pregnancy we studied the levels of circulating immune complexes during single and two-time administration of methotrexate. The results of the experiment showed that circulating immune complexes is significantly increased in the group of rats that was administered only cytostatics. While calcium folinate treatment showed reduction of circulating immune complexes in experimental animals.

Ключові слова: позаматкова вагітність, метотрексат, циркулюючі імунні комплекси, кальцій фолінат.

Ключевые слова: внематочная беременность, метотрексат, циркулирующие иммунные комплексы, кальций фолинат.

Key words: ectopic pregnancy, methotrexate, circulating immune complexes, calcium folinate.

ВСТУП. Останнім часом кількість гінекологічних хворих з діагнозом позаматкової вагітності невпинно зростає [1, 3]. Високий рівень УЗ-діагностики дозволяє виявляти цю патологію на малих термінах затримки менструації. Тому при прогресуючій позаматковій вагітності згідно з протоколом № 676 МОЗ України від 31.12.2004 року жінкам надається можливість проходити консервативне лікування цитостатиком [1, 10]. Проте метотрексат не лише впливає на розвиток трофобласта, що дає терапевтичний ефект у лікуванні даної патології, але й має серйозні побічні дії, пов'язані з депресією кістково-мозкового кровотворення, токсичним впливом на слизові оболонки, печінку, легені та кістковий мозок, а також спричинює розлади в гуморальній ланці імунітету [2].

За фізіологічних умов утворення та присутність циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у рідинах є одним із проявів імунної відповіді організму на надходження антигенів та важливим чинником, що забезпечує імунітет [4, 5]. Утворені імунні комплекси, за цих умов, деякий час циркулюють у лімфі і крові, після чого відбувається їх елімінація. Одночасно з цим ЦІК можуть запускати ланцюги патологічних змін, які започатковують аутоімунні захворювання, оскільки тривала циркуляція їх навіть при незначному підвищенні в рідинах організму призводить до нагромадження у тканинах [6]. Сформовані циркулюючі імунні комплекси взаємодіють практично зі всіма

клітинами крові, з компонентом, а також рецепторами багатьох клітин органів і тканин: ендотеліального шару судин, клітин гломерулярного апарату нирок тощо [7]. Взаємодія ЦІК з імунокомпетентними клітинами призводить до модуляції імунної відповіді. Так, при взаємодії з моноцитарно-макрофагальними клітинами відбувається вихід протеолітичних ферментів, взаємодія з тромбоцитами стимулює синтез гістаміну, простагландинів тромбоксанів, а при активації комплементу посилюється продукування кінінів, анафілотоксинів, опсонінів, хемотаксинів [8, 12].

Метою цього дослідження було вивчення рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у щурів на експериментальній моделі прогресуючої позаматкової вагітності, лікованої метотрексатом, залежно від його дози і корекції цього показника кальцієм фолінатом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Робота виконана на 54 лабораторних білих щурах, які утримувались у стандартних умовах виварію. Були відібрані статевозрілі не вагітні самки з масою тіла (220±5) г. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Піддослідні тварини були розділені на такі групи: 9 груп по 6 тварин. До першої групи ввійшли 6 здорових статевозрілих не вагітних самок. В дослідні

групи ввійшли тварини, яким вводився метотрексат у дозі 1 мг/кг внутрішньом'язово. Рівень токсичності плазми визначався на 3 добу (друга група) та 7 добу (третья група). До четвертої та п'ятої груп ввійшли тварини, які після одноразового введення метотрексату внутрішньом'язово у дозі 1 мг/кг додатково отримували кальцій фолінат у дозі 0,1 мг/кг через 24 год після першої ін'єкції, виведення з експерименту, відповідно, на 3 та 7 добу. Щурам, які увійшли до шостої та сьомої груп, вводився метотрексат двічі, через 7 днів після першої ін'єкції у вищезазначеній дозі, виведення з експерименту на 3 та 7 добу після останнього введення метотрексату. Щурам восьмої та дев'ятої груп вводили дворазово метотрексат та кальцій фолінат через 24 год після ін'єкції та визначали еритроцитарний індекс інтоксикації на 3 та 7 добу.

Рівень гуморального імунітету організму оцінювали за рівнем циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [9, 11], які визначалися на 3 та 7 добу після введення метотрексату.

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України» в програмному пакеті StatSoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Аналізуючи отримані результати (табл. 1 та рис. 1),

звертає на себе увагу достовірна різниця між показниками контрольної групи щурів та дослідних. Порівнюючи рівень циркулюючих імунних комплексів у контрольній групі та при одноразовому введенні метотрексату на 3 та 7 добу зріс на 50,9 % (85,5±2,078) ум. од. та 54,1 % (87,33±2,789) ум. од., p<0,001 відповідно проти 56,67±2,39 ум. од. у щурів контрольної групи. Тоді як при використанні КФ (у 4 та 5 групах) цей показник зріс лише на 29,7 % та 50,6 % (73,5±1,746) ум. од. та (78,67±2,155) ум. од., p<0,001 проти (56,67±2,39) ум. од. – у щурів контрольної групи). Відповідно порівнюючи 2 та 3 групи з 4 і 5 групами рівень циркулюючих імунних комплексів зменшився при використанні КФ на 18,8 % на 3 добу (з 85,5±2,078 ум. од. до 73,5±1,746 ум. од., p<0,01) та на 11 % на 7 добу (з 87,33±2,789 ум. од. до 78,67±2,155 ум. од., p<0,05).

Повторне введення метотрексату у щурів (табл. 2) приводило до ще більшого зростання рівня циркулюючих імунних комплексів через 3 та 7 днів на 70,6 % та 68,2 % відповідно (96,67±1,764) ум. од. та (95,33±3,127) ум. од., проти (56,67±2,39) %, p<0,001 у щурів контрольної групи та на 13,1 % 85,5±2,078 ум. од. (p<0,001) та 9,2 % 87,33±2,789 (p<0,05), порівнюючи з одноразовим введенням. Тоді як при використанні КФ (8 та 9 групи) цей показник зріс лише на 29,1 % та 54,1 % (73,17±1,167) ум. од.

Таблиця 1. Вміст рівня циркулюючих імунних комплексів у щурів при одноразовому введенні метотрексату і корекції кальцій фолінатом

Показник	Контроль (1 група)	Метотрексат 1 введення		Метотрексат 1 введення + лікування КФ	
		3 доба (2 група)	7 доба (3 група)	3 доба (4 група)	7 доба (5 група)
ЦІК, ум. од.	56,67±2,39	85,5±2,078*	87,33±2,789*	73,5±1,746*	78,67±2,155*

Примітка. *(p<0,001) – достовірність різниці показників між дослідними групами щурів і контролем.

Таблиця 2. Вміст рівня циркулюючих імунних комплексів у щурів при дворазовому введенні метотрексату і корекції кальцій фолінатом

Показник	Контроль (1 група)	Метотрексат 1 введення		Метотрексат 1 введення + лікування КФ	
		3 доба (6 група)	7 доба (7 група)	3 доба (8 група)	7 доба (9 група)
ЦІК, ум. од.	56,67±2,39	96,67±1,764*	95,33±3,127*	73,17±1,167*	87,5±1,91*

Примітка. *(p<0,001) – достовірність різниці показників між дослідними групами щурів і контролем.

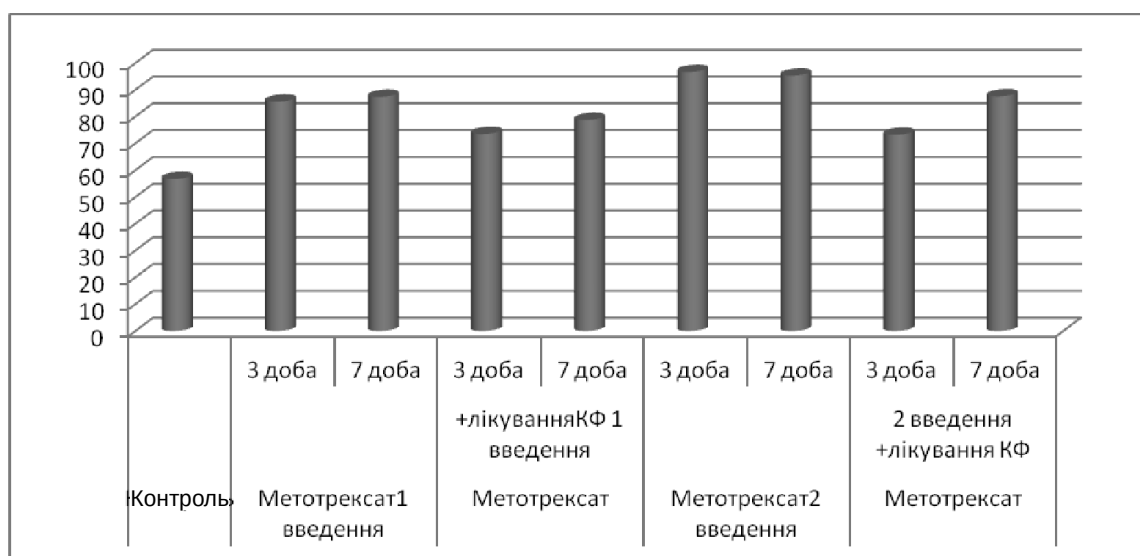


Рис. 1. Графік зміни рівня циркулюючих імунних комплексів у щурів під впливом різних доз метотрексату.

та (87,5±1,91) ум. од., проти (56,67±2,39) ум. од., $p < 0,001$ у щурів контрольної групи). Результати дослідження показали, що рівень циркулюючих імунних комплексів у 8 та 9 групах при використанні КФ в порівнянні до 6 та 7 груп зменшився на 32,1 % на 3 добу з 96,67±1,764 ум. од. до 73,17±1,167, $p < 0,001$ та на 13,8 % на 7 добу з 95,33±3,127 ум. од. до 87,5±1,91, $p < 0,05$.

При вивченні показників одноразового (у 2 групі) та дворазового введення метотрексату при повторному введенні (у 6 групі тварин) виявили збільшення рівня циркулюючих імунних комплексів на 3 добу на 19,7 %, $p < 0,001$, а на 7 добу (3 та 7 групи) відповідно – на 14,1 %, $p < 0,001$; тоді як при використанні КФ на 3 добу (4 та 8 групи) цей показник змінюється всього на 0,6 %, $p > 0,05$, та на 7 добу (5 та 9 групи) – на 15,6 %, $p < 0,001$.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бодур С. Какова роль первичного метотрексата лечения внематочной беременности / С. Бодур, Р. Гвидо // *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Апрель; 210 (4) :379-80.
2. Громашевская Л. Л. Метаболическая интоксикация в патогенезе и диагностике патологических процессов / Л. Л. Громашевская // *Лабораторная диагностика*. – 2006. – № 1 (35). – С. 3–13.
3. Гуриев Т. Д., Внематочная беременность / Т. Д. Гуриев, И. С. Сидорова. – М. : Практическая гинекология, 2007. – 96 с.
4. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – Одесса : АстроПринт, 1999. – С. 240–243.
5. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія / В. Є. Казмірчук, Л. В. Ковальчук. – Вінниця : Нова книга, 2006. – С. 267–275.
6. Карсонова М. И. Лимфоидные образования слизистых оболочек: принципы токсической иммунизации / М. И. Карсонова, Б. В. Пинегин // *Иммунология*. – 2003. – № 6 (24). – С. 359 – 365.
7. Логинский В. Е. Количественное определение цирку-

ВИСНОВКИ. Враховуючи дані експерименту, можна зробити висновок, що введення метотрексату підвищує рівень імунних комплексів, що призводить до збільшення можливості виникнення аутоімунних захворювань. Дворазове введення цитостатика приводить до значного підвищення рівня ЦІК. Використання кальцій фолінату дозволяє мінімізувати негативний вплив метотрексату на щурів. Значне зниження рівня ЦІК при дворазовому введенні цитостатика і КФ дозволяє рекомендувати застосовувати дану схему для профілактики побічної дії метотрексату.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Впровадження результатів експерименту в клінічну практику.

лирующих иммунных комплексов у гематологических и онкологических больных / В. Е. Логинский, Т. Г. Фецич, Л. С. Захарчук // *Лабораторное дело*. – 1983. – № 6. – С. 16–18.

8. Ляшенко Ю. И. Циркулирующие иммунные комплексы при инфекционных заболеваниях / Ю. И. Ляшенко, В. И. Трихлеб // *Советская медицина*. – 1985. – № 1. – С. 27–31.

9. Методы определения циркулирующих иммунных комплексов / С. Г. Осипов, В. В. Еремеев, В. И. Руднев, В. Н. Титов // *Лабораторное дело*. – 1983. – № 11. – С. 3–7.

10. Отри А. М. Медикаментозное лечение внематочной беременности: есть ли что-то новое? / А. М. Отри // *Obstet Gynecol*. 2013 октябрь; 122 (4) :733-4. DOI: 10.1097.

11. Стефани Д. В. Метод определения циркулирующих иммунных комплексов с использованием сыворотки, содержащей ревматоидный фактор / Д. В. Стефани, Т. В. Виноградова // *Лабораторное дело*. – № 7. – 1981. – С. 429–431.

12. Фрейдлин И. С. Структура, функции и регуляции иммунной системы / И. С. Фрейдлин // *Иммунодефицитные состояния*. – СПб., 2000. – С. 17–89.

Отримано 04.03.16