Рекомендована д.м.н., професором Л.М.Малоштан

УДК 615.015:615.276

НЕСТЕРОЇДНІ АНТИФЛОГІСТИКИ-ІМУНОКОРЕКТОРИ У ФАРМАКОТЕРАПІЇ ЕНДОГЕННИХ УВЕЇТІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

А.І.Березнякова, В.Г.Півненко

Українська фармацевтична академія

Вивчені імунокоригуючі властивості вольтарену і фацифлогіну у інтактних тварин та в умовах модельної патології. Доведено, що механізм їх імунокоригуючої дії реалізується за рахунок впливу на клітинну і гуморальну ланки імунітету.

Фармакологічна регуляція імунологічних відхилень в організмі на різних рівнях з врахуванням динаміки клітинних і гуморальних реакцій при патологічних станах — актуальна проблема сучасної фармакології.

Існує цілий ряд захворювань за участю в них імунопатологічного компонента. До таких станів відносяться і увеїти різної етіології [8, 9].

Проте до теперішнього часу застосування нестероїдних антифлогістиків у комплексній терапії базувалося на використанні їх вираженої протизапальної активності. При цьому не враховувалися доза, ефект препаратів і можливість участі нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) в регуляції імунологічних процесів.

Систематизованих досліджень, що визначають імунодепресивну або імуностимулюючу дію НПЗЗ за широким спектром імунологічних показників і використання результатів експериментів в клінічній практиці офтальмологів для корекції патологічних зрушень при запаленні судинної оболонки ока, в літературі ми не зустріли [3].

Основними препаратами для вивчення були вибрані вольтарен і фацифлогін, препарати рослинного походження, виділені з листя фатсії японської.

Метою цієї роботи було вивчення імунокоригуючих механізмів дії вольтарену і фацифлогіну, а також можливостей використання препаратів у фармакотерапії ендогенних увеїтів.

Для вивчення впливу препаратів на імунореактивність ми використали стандартні та імунологічні методи дослідження, що дозволяють характеризувати вплив препаратів на клітинну і гуморальну ланки імунітету.

Реакцію бласттрансформації лімфоцитів вивчали за методом Adler S. et al (1976). Виділення лейкоцитів проводили у градієнті щільності фіколверографін. Облік Т-клітин (спонтанне утворення розетки) робили у процентному відношенні до кількості лімфоцитів. Субпопуляції Т-лімфоцитів визначали за їх відношеннями до теофіліну [7]. Фагоцитарну активність перитоніальних макрофагів кролів вивчали у відношенні тест-штаму стафілококів "209". Вміст ЦІК (циркулюючих імунних комплексів) визначали за методом преципітації 3,5% розчином поліетиленгліколю (М.в.-6000) [13]. Комплементарний титр сироватки крові визначали за 50% гемолізом. Ступінь гемолізу при титруванні комплемента визначали колориметричним методом, причому його активність виражали у гемолітичних одиницях. Кількісне визначення імуноглобулінів основних класів у сироватці крові кролів здійснювали методом простої радіальної імунодифузії [12] з використанням моноспецифічних сироваток до різних класів імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG) (див. табл.).

Таблиця

Вплив фацифлогіну і вольтарену на вміст імуноглобулінів основних класів у сироватці крові інтактних кролів і тварин з ендогенним увеїтом (X±Sx)

Умови досліду Доза препарату	Класи імоноглобулінів (мкмоль/л)		
	A	M	G
Контроль (інтактні тварини)	2,45±0,28	0,45±0,04	30,8±6,95
Інтактні тварини + фацифлогін (25 мг/кг)	1,85±0,59*	0,41±0,02*	30,2±7,18
Інтактні тварини + вольтарен (8 мг/кг)	1,75±0,47*	0,39±0,07*	29,8±6,17
Увеїт без лікування	3,43±0,38*	0,52±0,05*	27,7±3,70*
Увеїт + фацифлогін (25 мг/кг)	2,52±0,56**	0,48±0,04**	28,4±3,20
Увеїт + вольтарен (8 мг/кг)	2,43±0,48**	0,46±0,11**	28,7±3,41

Примітка: * — достовірно по відношенню до інтактних тварин; ** — достовірно по відношенню до увеїту без лікування.

Експериментальною моделлю для вивчення імунокоригуючих властивостей вольтарену і фацифлогіну був обраний ендогенний увеїт [2], у патогенезі якого провідна роль відводиться імунопатологічним процесам, а нестероїдні антифлогістики до теперішнього часу не застосовувалися в ролі імунокоректорів в офтальмології для лікування запальних захворювань судинної оболонки ока. Фацифлогін і вольтарен використовували перорально в умовно терапевтичних дозах — 25 мг/кг та 8 мг/кг відповідно.

Статистичну обробку результатів проводили за загальновизнаними методиками варіаційної статистики [5]. Статистично значимими вважали дані з рівнем достовірності P<0,05.

Результати досліджень та їх обговорення

Згідно з отриманими даними у тварин з ендогенним увеїтом без лікування виявилося ослаблення РТТЛ у відповідь на стимуляцію ФГА (38,5±4,3) у хворих тварин і 52,1±6,3 в інтактних тварин, P<0,05). При вивченні впливу фацифлогіну і вольтарену на здатність лімфоцитів до бласттрансформації у відповідь на ФГА у інтактних тварин спостерігалося зниження функціональної активності Т-лімфоцитів (49,4±2,8 і 47,8±6,3, P<0,1). При лікуванні препаратами відмічалося підвищення показників бласттрансформації лімфоцитів близько до контрольних (45,4±3,2 для фацифлогіну і 46,5±2,3 для вольтарену, P<0,05).

При дослідженні впливу фацифлогіну і вольтарену на реакцію розеткоутворення (Е-РОК) і субпопуляції Т-лімфоцитів (Т-хелпери і Т-супресори) у інтактних тварин було встановлено, що в умовно терапевтичних дозах препарати достовірно знижували вміст Т-лімфоцитів (39,5±2,4 для фацифлогіну і 38,4±3,1 для вольтарену при 41,2±1,9 у контролі, P<0,05) і Т-супресорних клітин (10,4±1,9 для фацифлогіну і 9,8±1,5 для вольтарену при 11,2±1,3 у контролі), що не узгоджується з деякими даними літератури [1]. У тварин з експериментальним увеїтом відмічалось достовірне зниження вмісту загальної кількості Т-лімфоцитів (41,2±1,9 і 36,8±2,1) і збільшення кількості Т-супресорів (11,2±1,3 і 14,4±1,7). В процесі лікування препаратами було відмічене достовірне зниження вмісту Т-супресорів до контрольних цифр (11,8±2,4 для фацифлогіну, 11,6±1,7 для вольтарену, 11,2±1,3 у контролі, P<0,05). Крім того, спостерігалось підвищення вмісту загальної кількості Т-лімфоцитів і Т-хелперів (P<0,1) (табл.).

Фагоцитарна активність нейтрофілів периферійної крові є чутливим інформативним тестом, що відображає стан природного захисту організму в умовах норми і патології. Відомо, що реакція імунної відповіді принципово залежить від первинної фагоцитарної активності лейкоцитів. Це послужило основою для вивчення впливу фацифлогіну і вольтарену на фагоцитарну активність перитоніальних макрофагів кролів у інтактних тварин і хворих на експериментальний токсико-алергійний увеїт.

Встановлено, що фагоцитарна активність перитоніальних макрофагів при застосуванні фацифлогіну і вольтарену у інтактних тварин достовірно підвищувалась (P<0,05).

При експериментальному увеїті без лікування виявилось зменшення показників ФЧ у 2 рази, ФА у 1,2 рази, ФЗ у 1,2 рази. При лікуванні експериментального увеїту обидва препарати зберігали потенційний ефект у відношенні фагоцитарної функції перитоніальних макрофагів і проявляли фагоцитозостимулюючу активність, більш виражену для вольтарену (фацифлогін: ФЧ — 7,8±0,5; ФА — 70,6±9,7; ФЗ — 50,1±4,7; вольтарен: ФЧ — 7,9±0,3; ФА — 60,1±5,8; ФЗ — 61,2±6,8 (P<0,05); контроль: ФЧ — 7,2±0,5; ФА — 60,5±2,2; ФЗ — 51,5±2,9).

Циркулюючі імунні комплекси зустрічаються при багатьох патологічних станах і є одним з важливих механізмів імунної відповіді. Імунні комплекси активують систему комплемента, стимулюють виділення медіаторів гуморального і клітинного імунітету. В зв'язку з цим ми визначили вміст ЦІК у 6-ти групах тварин: у інтактних, здорових, у тих, що одержували препарат, з увеїтом без лікування, з увеїтом, у тих, яких лікували препаратами.

Аналіз результатів свідчить про те, що препарати не мали вираженого впливу на рівні ЦІК у сироватці крові інтактних кролів у порівнянні з контрольною групою. У тварин з увеїтом було виявлене статистично достовірне підвищення рівня ЦІК (2,93±0,21) у порівнянні з контрольними тваринами (0,14±0,04). При лікуванні препаратами спостерігалось зниження рівнів ЦІК, більш виражене у вольтарену (P<0,05).

Відомо, що в реакціях імунологічного захисту безпосередню участь бере комплемент, який діє вже на ранніх етапах антигенної дії [11].

При експериментальному увеїті відмічалось підвищення комплементарного титру до 51,68±1,91 при контрольному значенні 44,21±1,53 (P<0,05). В процесі лікування препаратами комплементарний титр сироватки крові достовірно знижувався (P<0,05).

Вивчення імуноглобулінів сироватки крові як у хворих, так і у здорових кролів (табл.) показало достовірне підвищення концентрацій IgA і IgM (3,43±0,38 і 0,52±0,05 проти 2,45±0,28 і 0,45±0,04 у контролі відповідно) і зниження концентрації IgG (27,7±3,70 проти 30,8±6,95 у контролі, P<0,05) у тварин з експериментальним увеїтом. У інтактних тварин, що отримували фацифлогін і вольтарен, відмічалось достовірне зниження

вмісту IgA і IgM (1,85±1,59 і 0,41±0,02 для фацифлогіну та 1,75±0,47 і 0,39±0,07 для вольтарену проти 2,45±0,28 і 0,45±0,04 у контролі). Концентрація IgG під впливом препаратів у сироватці крові інтактних тварин практично не змінювалась. При лікуванні тварин з експериментальним увеїтом фацифлогіном і вольтареном спостерігалось достовірне зниження рівня IGA і IgM до контрольних значень (2,52±0,56 та 0,48±0,04 для фацифлогіну та 2,43±0,48 і 0,46±0,11 для вольтарену). Рівень IgG підвищувався до 28,4±3,20 при лікуванні фацифлогіном і до 28,7±3,41 при лікуванні вольтареном (P<0,01).

Проведені нами дослідження істотно поглибили уявлення про механізм імунотропної і протизапальної дії нестероїдних антифлогістиків, зокрема, фацифлогіну і вольтарену, дія яких до недавнього часу (протизапальний ефект) пояснювалась виключно пригніченням синтезу простагландинів. В останні роки стало очевидно, що в основу простагландинової гіпотези закладені терапевтичні ефекти тільки низьких, але не високих доз НПЗЗ. Є дані про те, що НПЗЗ підвищують рівень внутрішньоклітинного кальцію у Т-лімфоцитах, що асоціюється із збільшенням проліферації Т-лімфоцитів і синтезом інтерлейкіну-2 [6]. Одна з цих тез підтверджена результатами наших експериментів (РБТЛ).

При співставленні змін субпопуляцій Т-лімфоцитів з іншими імунологічними показниками при увеїті без лікування було виявлено, що дефіцит Т-хелперів і підвищення кількості Т-супресорів корелює з наявністю високих рівнів ЦІК, гіперімуноглобулінемією М та А, зниженням проліферативної активності лімфоцитів на неспецифічний мітоген ФГА. Це може свідчити про наявність дефекту функції Т-системи імунітету, а оскільки Т-система регулює як клітинний, так і гуморальний імунітет, то одним з механізмів імунотропної дії фацифлогіну і вольтарену можна вважати відновлення дефекту функції Т-системи за рахунок пригнічення супресорної активності, стимуляції проліферативної активності лімфоцитів на неспецифічний мітоген фітогемаглютинін, а також фагоцитарної активності лімфоцитів.

Особливу увагу привертають отримані нами дані про зміну кількості імуноглобулінів. Виявлення збільшення кількості імуноглобулінів А і М класів, а також зниження імуноглобуліну G при токсикоалергійному увеїті цілком закономірне, оскільки за даними літератури [2] у гострій стадії аутоімунних процесів кількість Т-лімфоцитів і рівень імуноглобуліну G знижуються. Не можна не приділити належної уваги імунним комплексам. У формуванні ЦІК приймають участь різні антигени ендогенного та екзогенного походження і антитіла. ЦІК активують систему комплементу, стимулюють виділення медіаторів гуморального і клітинного імунітету. При відкладенні ЦІК у тканинах накопичуються лейкоцити, виділяється фактор проникності, пошкоджується ендотелій судин і розвивається запальний процес [4]. Результати, отримані нами при вивченні впливу фацифлогіну і вольтарену на вміст ЦІК та імуноглобулінів різних класів, свідчать про те, що одним з можливих механізмів імунотропної дії препаратів є їх вплив на гуморальну ланку імунітету.

ВИСНОВКИ

1. Фацифлогін і вольтарен у інтактних тварин не впливають на показники бластної трансформації лімфоцитів, рівні циркулюючих імунних комплексів, комплементарний титр сироватки крові, рівень імуноглобуліну G. Вони знижують загальну кількість Т-лімфоцитів і Т-супресорних клітин, рівні імуноглобулінів А і М, проявляють фагоцитозостимулюючу дію.

2. При експериментальному токсико-алергійному увеїті без лікування спостерігалось зниження дії проліферативної активності лімфоцитів на неспецифічний мітоген-фітогемаглютинін, зниження загальної кількості Т-лімфоцитів і Т-хелперів, показників клітинного неспецифічного імунітету, вмісту IgG, а також підвищення кількості Т-супресорів, вмісту циркулюючих імунних комплексів, рівня комплементарного титру сироватки крові, сироваткових імуноглобулінів А і М.

3. При лікуванні тварин, хворих на увеїт, фацифлогін і вольтарен знижують кількість Т-супресорних клітин, вміст циркулюючих імунних комплексів, комплементарний титр сироватки крові, рівні імуноглобулінів А і М, а також підвищують показники бластної трансформації лімфоцитів, фагоцитарну активність лімфоцитів; вони не впливають на вміст загальної кількості Т-лімфоцитів і Т-хелперів та рівень імуноглобуліну.

4. Механізм імунокоригуючої дії фацифлогіну і вольтарену реалізується за рахунок впливу на клітинну (шляхом усунення дефекту Т-системи на рівні інгібування Т-супресорів, стимуляції проліферативної активності лімфоцитів на неспецифічний мітоген ФГА і фагоцитарної активності лімфоцитів) і гуморальну ланки імунітету (за рахунок зниження вмісту ЦІК, комплементарного титру сироватки крові і рівня імуноглобулінів А та М).

5. Наявність вираженої імунодепресивної дії вольтарену та імуномодулюючих дозо-залежних властивостей фацифлогіну в умовах модельної патології відкриває перспективи використання цих препаратів в офтальмології при фармакотерапії ендогенних увеїтів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Болотская Н.В.// Тез. докл. VI Всесоюз. съезда фармакологов. — Ташкент, 1988. — С. 53-54.*
2. *Ваничкин А.А., Шпак Н.И.// Офтальмол. журн. — 1982. — №1. — С. 10-13.*
3. *Кресюн В.И., Бажора Ю.И., Рыбалова. Клинические аспекты иммунофармакологии. — Одесса, 1993. — С. 208.*
4. *Кацнельсон Л.А.// Вестн. офтальмол. — 1987. — №1. — С. 42-45.*
5. *Минцер О.П., Угаров Б.Н., Власов В.В. Методы обработки медицинской информации. — Киев: Выща школа, 1982. — 158 с.*
6. *Насонов Е.Л.// Клинич. фармакол. и терапия. — 1994. — Т. 3. — №4. — С. 16-21.*
7. *Пастер Е.У., Овод В.В., Позур В.К. Иммунология. — Киев: Выща школа, 1989. — С. 230-234.*
8. *Пеньков М.А., Зубарев С.Ф., Аврущенко Н.М., Панченко Н.В.// Офтальмол. журн. — 1992. — №1. — С. 1-5.*
9. *Пеньков М.А., Зубарев С.Ф., Аврущенко Н.М., Панченко Н.В.// Офтальмол. журн. — 1993. — №1. — С. 31-35.*
10. *Петров Р.В., Хаитов Р.М., Манько В.М., Михайлов А.А. Контроль и регуляция иммунного ответа. — Л.: Медицина, 1981. — С. 25-32.*
11. *Теплинская Л.Е.// Тез. докл. VIII Международной конф. офтальмологов Одесса—Генуя. — Одесса, 1993. — С. 196.*
12. *Mancini G. et al. A single-radial-diffusion method for the immunological quantitation of proteins// Protides of the biological fluids/ Ed.H.Peters. — Amsterdam: Elsevier Publ.Co. — 1964. — P. 328-340.*
13. *Stromberg P., Mc.Murrey D., Brown C.// J.Clin. lab. Immunol. — 1988. — Vol. 25. — №2. — P. 89-95.*

УДК 615.015:615.276

НЕСТЕРОИДНЫЕ АНТИФЛОГИСТИКИ-ИММУНОКОРРЕКТОРЫ В ФАРМАКОТЕРАПИИ ЭНДОГЕННЫХ УВЕИТОВ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

А.И.Березнякова, В.Г.Пивненко

Изучены иммунокоррегирующие свойства вольтарена и фацифлогина у интактных животных и в условиях модельной патологии. Доказано, что механизм их иммунокоррегирующего действия реализуется за счет влияния на клеточное и гуморальное звено иммунитета.

UDC 615.015:615.276

NONSTEROIDAL ANTIPHLOGISTICS-IMMUNOCORRECTICUM ENDOGENETIC UVEITUMS IN PHARMAKOTHERAPY

A.I.Bereznyakova, V.G.Pivnenko

The immunocorrectical properties of voltarenum and faciflo-ginum have been studied. It is shown, that the mechanism of immunocorrectical effect was realised through cellulare and humorale links of immunitate.

ДОВІДНИК ВФ

ВИБРАНІ ЛЕКЦІЇ З ФАРМАКОЛОГІЇ

МЕХАНІЗМ ДІЇ, ФАРМАКОДИНАМІКА І ПОКАЗАННЯ ДО ЗАСТОСУВАННЯ ОСНОВНИХ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ГРУП

Видавництво "Основа", Харків, 1991 р.

С.М.Дроговоз, Н.Л.Кузнєцова, Л.В.Яковлєва, І.М.Риженко, Н.В.Бездєтко, І.А.Зупанець

В учбовому посібнику висвітлені питання сучасного стану і основних положень загальної фармакології, а також фармакології найбільш важливих груп лікарських засобів.

Чітко і зрозуміло викладені механізми дії, фармакокінетика, фармакодинаміка, показання до застосування, побічні дії фармакологічних груп з врахуванням останніх досягнень сучасної вітчизняної та світової фармакології.

З номенклатури вилучені відомості про препарати, що застаріли або зняті з виробництва, введені назви нових, які отримали дозвіл до застосування.

Для студентів, провізорів, лікарів.