

УДК 616.832

Т. Ю. Степанова,

Т. О. Філіпова, *д-р біол. наук, проф.*,

Б. М. Галкін *д-р біол. наук, проф.*

ВПЛИВ ТИЛОРОНУ НА РІВЕНЬ ФНП- α , ІФН- γ ТА ІЛ-10 У ТКНИНАХ МИШЕЙ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТОМ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова МОН України

Проблема регуляції імунної відповіді за розсіяним склерозом (РС) і його експериментальною моделлю (експериментальним алергічним енцефаломієлітом — ЕАЕ) сьогодні є однією з найбільш гострих у терапії цієї складної нейро-

імунної патології. Все частіше для цього використовуються імуномодулятори з різними механізмами дії, одним з яких є тилорон (аміксин) — синтетичний низькомолекулярний індуктор ендogenous інтерферону.

Як відомо, за РС і ЕАЕ спостерігається посилення окисного метаболізму моноцитів, активується проліферація клітин-попередників макрофагів і, як наслідок, змінюється загальний стан цитокінового ланцюга імунітету за рахунок акти-

вації/супресії продукції як про-, так і протизапальних цитокінів (посилюється синтез (вироблення) ІФН- γ , ФНП- α [1]). Раніше нами було показано, що розвиток ЕАЕ супроводжується нагромадженням у периваскулярному просторі моноклеарних клітин і змінами функціонального стану макрофагів поза межами ЦНС [2]. Вивчення впливу аміксіну на стан макрофагального ланцюга імунітету показало, що препарат підвищує поглинальну здатність макрофагів, а також інтенсифікує окисно-відновні процеси *in vivo*. Відомо, що аміксин може впливати на деякі імунні реакції безпосередньо, тимчасом як зміна активності інших опосередковується інтерфероном [3].

У зв'язку з цим, вивчення *in vivo* зміни рівня про- і протизапальних цитокінів (насамперед ІФН- γ , ФНП- α та ІЛ-10) після введення тилорону мишам, хворим на ЕАЕ, має певне теоретичне і практичне значення.

Матеріали та методи дослідження

В експерименті використовували білих мишей-самців масою 18–20 г, що знаходилися у стандартних умовах віварію з постійним доступом до води. Для індукції ЕАЕ мишам вводили 50%-й гомогенат гомологічного мозку з однаковим об'ємом пов-

ного ад'юванту Фрейнда у задні лапи під апоневроз [4].

Тилорон (виробництва «ІнтерХім») вводили мишам перорально дозою 50 мг/кг за годину до індукції ЕАЕ. Вміст ФНП- α , ІФН- γ та ІЛ-10 визначали у сироватці, селезінці, головному мозку тварин імуноферментним методом із використанням тест-наборів Anti-mouse Ready-Set-Go! Cytokine ELISA Kit фірми «eBioscience» (США). При виконанні аналізів керувалися інструкцією фірми-виробника. Облік результатів проводили на планшетному фотометрі «Уніплан» (Росія) при довжині хвилі 450 нм.

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження вмісту ФНП- α , ІФН- γ та ІЛ-10 проводили на 3-тю, 7-му та 14-ту добу після введення мишам енцефалітогенної емульсії. Вибір термінів базувався на даних літератури [5] і власних дослідженнях динаміки розвитку ЕАЕ.

Вміст ІФН- γ та ФНП- α у сироватці крові мишей з ЕАЕ різко зростає на 3-тю добу, на 7-му досягає максимального значення, на 14-ту — все ще перевищує контрольні показники. На 3-тю добу вміст ІФН- γ перевищує контрольне значення в 3 рази, на 7-му добу — в 4 рази. На 14-ту добу цей показник зменшується, але контрольного рівня не дося-

гає. З аналогічною динамікою змінюється і вміст ФНП- α , при цьому максимальне значення рівня цього цитокіну перевищує контрольне у 2,5 рази. Рівень протизапального цитокіну ІЛ-10, що реалізує протилежну ІФН- γ дію, є зниженим у всі терміни захворювання (рис. 1).

Підвищений рівень ІФН- γ вірогідно знижується після введення тилорону в середньому в 2 рази. Для ФНП- α спостерігається менш істотне зниження, однак у всі терміни захворювання дія тилорону приводить до нормалізації рівня цього цитокіну. У динаміці розвитку ЕАЕ вміст ІЛ-10 під впливом тилорону зростає та досягає контрольного значення.

Більш істотні зміни було зафіксовано у селезінці та головному мозку експериментальних тварин. Абсолютний вміст усіх досліджених цитокінів у цих тканинах вищий за рівень, що відмічався для сироватки. Максимальне зростання вмісту ФНП- α у селезінці становить 330 %, а в головному мозку мишей з ЕАЕ — 500 % і реєструється на 7-му добу після індукції захворювання (рис. 2). Таке значне зростання рівня цього прозапального цитокіну свідчить про загострення запального процесу в головному мозку, що підтверджується морфологічними й іншими проведеними дослідженнями.

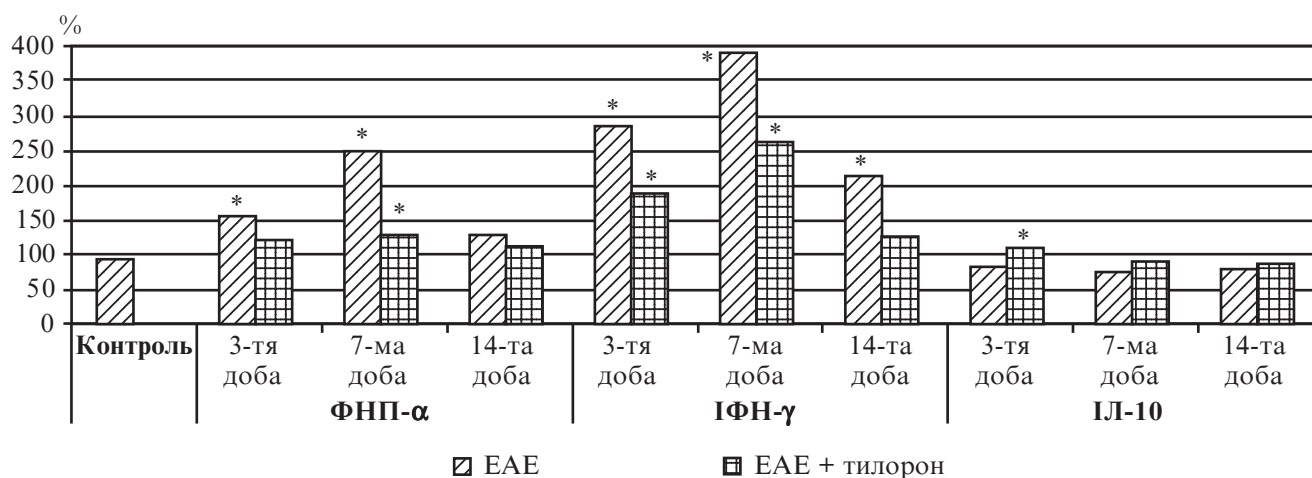


Рис. 1. Вплив тилорону (50 мг/кг) на вміст деяких цитокінів у сироватці крові мишей з ЕАЕ (n=20); на рис. 1–4: * — різниця вірогідна порівняно з інтактним контролем ($P \leq 0,05$)

Імуномодулятор тилорон знижує рівень ФНП- α у всі терміни захворювання: на 3-тю–7-му добу вміст ФНП- α як у печінці, так і в головному мозку знижується в середньому в 1,5 рази; на 14-ту добу відмічено загальне (але незначне — близько 20 %) зниження рівня ФНП- α , що, можливо, пов'язане із затуханням запалення. Таким чином, найвираженіший ефект спостерігається за різкою зміною рівня цитокіну у початковій і гострій фазах запалення.

Для ІФН- γ характерна аналогічна динаміка змін за ЕАЕ (рис. 3). Необхідно відмітити, що загальне зростання вмісту цього цитокіну в досліджених тканинах мишей з ЕАЕ на 3-тю–7-му добу після індукції становить 10–12 разів. Це підтверджується даними інших авторів щодо зростання секреції ІФН- γ [6–8], роль якого в патогенезі ЕАЕ полягає у промоції запалення.

На 3-тю і 7-му добу вміст ІФН- γ у селезінці та мозку перевищує контрольне значення майже в 10 разів. На 14-ту добу цей показник знижується, але ж усе ще перевищує контроль на 376 % у селезінці та на 469 % у мозку. Як і для ФНП- α , для ІФН- γ відмічено значне (у деяких випадках дворазове) зниження рівня під впливом тилорону як у селезінці, так і в мозку мишей із ЕАЕ у всі досліджені терміни захворювання. Показане зростання вмісту ІФН- γ є маркером розвитку запального процесу. При цьому зниження вмісту ІФН- γ та ФНП- α в усіх досліджених тканинах, що спостерігається після введення тилорону, пов'язане, можливо, зі зміною активності основних імунокомпетентних клітин, що продукують ці цитокіни, а також з індукцією тилороном синтезу ІФН- α і β .

Як і у сироватці крові, у досліджених тканинах спостерігається незначне зниження рівня ІЛ-10. Це відмічено у всі досліджені терміни захворювання. При цьому загальна дина-

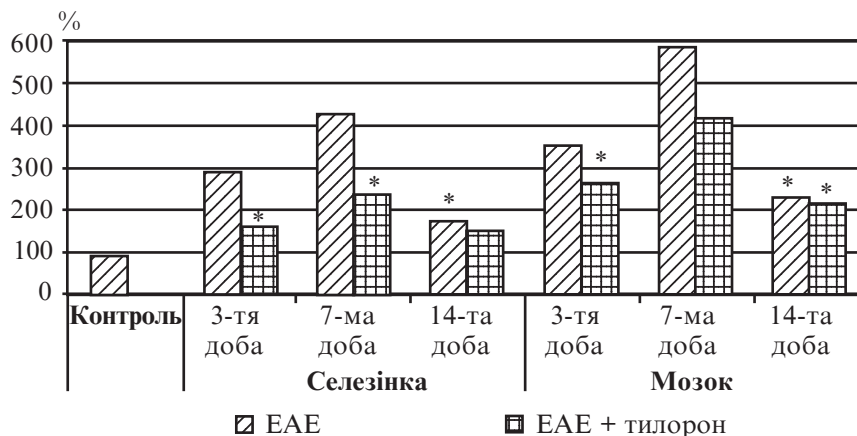


Рис. 2. Вплив тилорону (50 мг/кг) на вміст ФНП- α в селезінці та головному мозку мишей з ЕАЕ (n=20)

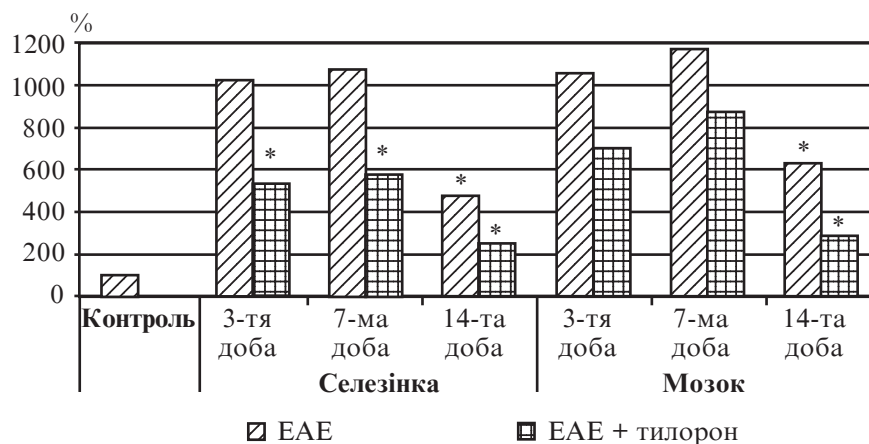


Рис. 3. Вплив тилорону (50 мг/кг) на вміст ІФН- γ у селезінці та головному мозку мишей з ЕАЕ (n=20)

міка зберігається. У період загострення запалення на фоні різкого зростання рівня прозапальних цитокінів спостерігається найсуттєвіше зниження рівня ІЛ-10 (на 20 % у селезінці та 23 % у мозку). Тилорон підвищує вміст ІЛ-10 у всі досліджені терміни захворювання.

Максимальне зростання у тканинах, що були досліджені, спостерігається на 3-тю добу — 26 % у селезінці та 30 % у мозку (рис. 4).

Зміна рівня ІЛ-10 є критичним фактором регуляції Т-клітинної активності і, як наслідок, важливим фактором для загаль-

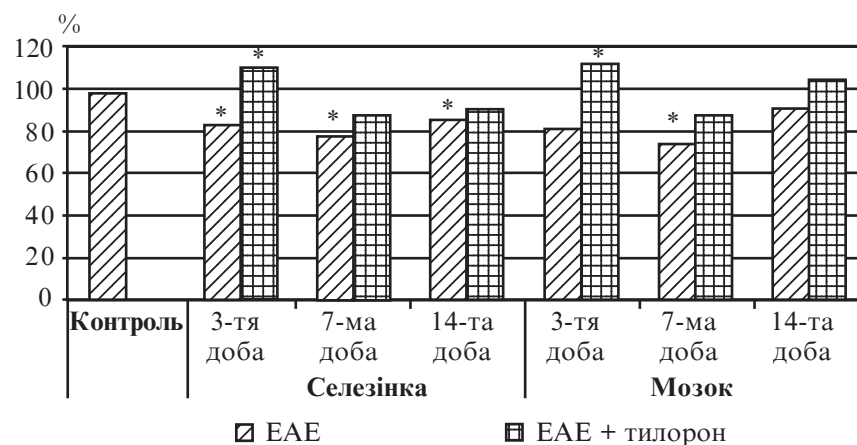


Рис. 4. Вплив тилорону (50 мг/кг) на вміст ІЛ-10 у селезінці та головному мозку мишей з ЕАЕ (n=20)

ної оцінки стану імунної системи за ЕАЕ. Тилорон, що підвищує рівень ІЛ-10 у всі терміни захворювання, можливо, реалізує свою дію через активацію Т-супресорів і зниження інтенсивності імунної відповіді. Крім того, можливою є й активація механізму зворотного зв'язку, при якому зростання рівня ІЛ-10 супроводжується зниженням продукції ІФН- γ .

Висновки

1. Розвиток ЕАЕ у мишей супроводжується суттєвим підвищенням вмісту ІФН- γ та ФНП- α у всіх досліджених тканинах тварин (сироватці крові, селезінці та головному мозку) в усі досліджені терміни захворювання. Це супроводжується незначним зниженням рівня ІЛ-10 у всіх досліджених варіантах.

2. Тилорон дозою 50 мг/кг після перорального одноразового введення мишам з ЕАЕ проявляє імунотропну дію, що проявляється у підвищенні рівня ІЛ-10 і зменшенні рівня ІФН- γ та ФНП- α в окремих тканинах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Чекнев С. Б. Патогенез рассеянного склероза: иммуностимуляция или иммунодефицит? / С. Б. Чекнев // Иммунология. — 1994. — № 2. — С. 9-17.
2. Степанова Т. Ю. Функциональный стан макрофагов та активність катепсину D у мишей з експериментальним алергічним енцефаломієлітом / Т. Ю. Степанова, Т. О. Філіпова, Б. М. Галкін // Достижения биологии та медицины. — 2005. — Т. 5, № 1. — С. 57-61.
3. Chandra P. Tilorone hydrochloride: the drug profile / P. Chandra, G. J. Wright // Top. Curr. Chem. — 1977. — Vol. 72, N 1. — P. 125-148.

4. Заргарова Т. А. Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит — модель рассеянного склероза / Т. А. Заргарова, О. О. Фаворова // Иммунология. — 1999. — № 2. — С. 5-9.

5. Острый энцефаломиелит в эксперименте и клинике / под ред. Д. А. Маркова. — Минск : Наука и техника, 1969. — 265 с.

6. Малышева О. А. Проблемы и перспективы лечения больных рассеянным склерозом / О. А. Малышева, В. С. Ширинский // Аллергология и иммунология. — 2002. — № 1. — С. 84-99.

7. Функциональное состояние иммунокомпетентных клеток в селезенке и головном мозге крыс после индукции ЭАЭ / Н. И. Лисяный, О. В. Маркова, О. Б. Горобец [и др.] // Иммунология та алергология. — 1998. — № 1. — С. 98-103.

8. Interferon-gamma-oligodendrocyte interactions in the regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis / R. Balabanov, K. Strand, R. Goswami [et al.] // J. Neurosci. — 2007. — Vol. 27, N 8. — P. 2013-2024.

УДК 616.832

Т. Ю. Степанова, Т. О. Філіпова, Б. М. Галкін

ВПЛИВ ТИЛОРОНУ НА РІВЕНЬ ФНП- α , ІФН- γ ТА ІЛ-10 У ТКАНИНАХ МИШЕЙ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТОМ

На моделі експериментального алергічного енцефаломієліту було вивчено вплив тилорону на рівень ФНП- α , ІФН- γ та ІЛ-10 у селезінці, головному мозку та сироватці крові мишей. Спостерігається, що тилорон справляє імунотропний ефект, збільшуючи рівень протизапального ІЛ-10 і зменшуючи вміст ФНП- α та ІФН- γ в усіх досліджених тканинах у різні терміни після індукції ЕАЕ.

Ключові слова: експериментальний алергічний енцефаломієліт, тилорон, цитокіни.

UDC 616.832

T. Yu. Stepanova, T. O. Filipova, B. M. Galkin

TILORONE EFFECT ON TNF- α , IFN- γ , IL-10 LEVEL IN TISSUES OF MICE WITH EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS

The changes of TNF- α , IFN- γ , IL-10 level in the spleen, brain and blood serum of mice with the experimental allergic encephalomyelitis were studied after tilorone administration. Tilorone had shown an immunomodulating effect, increasing anti-inflammatory IL-10 level and decreasing TNF- α , IFN- γ level in all studied tissues on different terms after EAE induction.

Key words: experimental allergic encephalomyelitis, tilorone, cytokines.
