

В.В. СЕГАЛ

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ВЛИЯНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ РАЗЛИЧНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ГИПЕРТРОФИЕЙ
ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ IN VITRO**

НМАПО им. П.Л. Шупика МЗ Украины

По данным ряда исследователей, гипертрофия миндалин лимфаденоидного глоточного кольца в настоящее время рассматривается как состояние компенсации при недостаточности локального или системного иммунитета [6, 7, 9], что дает основание для использования иммуномодуляторов в комплексном консервативном лечении таких больных.

Появление новых средств для иммунорекции диктует необходимость их оценки и сравнения с уже известными препаратами. Показано, что одним из корректных и доказательных подходов при оценке выбора иммуномодулятора могут быть пробы *in vitro* на экспрессию различных антигенов на поверхности мембраны кровяных или тканевых иммунокомпетентных клеток или на изменение их функциональной активности [6]. В последние годы оценка эффективности воздействия иммуномодуляторов проводится и по продукции цитокинов Th1 и Th2 лимфоцитами *in vitro* [2, 4]. В связи с вышеизложенным, целью работы было исследование влияния нескольких иммуномодуляторов различного происхождения на клетки крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины.

Материал и методы

Клетки периферической крови были получены при обработке стерильной венозной гепаринизированной крови у 19 детей в возрасте от 5 до 9 лет с гипертрофией глоточной миндалины (ГГМ) II степени. Среди этих пациентов лиц мужского пола было 10.

Наличие органно-системной патологии, инфекционных процессов, заболеваний слизистой оболочки полости рта и зубов было исключено при обследовании соответствующими специалистами.

Гепаринизированная кровь, взятая натощак из локтевой вены, для получения мононуклеаров сепарировалась на градиенте плотности фиколл-верографина (1.077d). Выделенные клетки отмывали средой 199 (Пан Эко) дважды центрифугированием при 110 g и взвешивали в среде RPMI-1640 (Serva) с обогащением до 5% объема эмбриональной телячьей сывороткой, глутамином 290 мкг/мл с содержанием гентамицина 40 мкг/мл. Иммуномодуляторы добавлялись в объеме 0,1 мл во флаконы из полистирола (Spektar) – в 1,5 мл взвеси, содержащей 2,5 млн клеток. Проводилось предварительное исследование по выбору оптимальной дозы препарата по продукции интерлейкина-1 β . Инкубирование в течение суток в CO₂-инкубаторе (Nuve EC-160), после чего отбиралась жидкая фаза и определялось содержание цитокинов, α - и γ -интерферонов, интерлейкина-5, интерлейкинов 1 и 10. Использовались наборы для ИФА определения указанных цитокинов ООО «Цитокин» (РФ) и анализатор Stat Fax 2100 (США). Изучалось влияние тiotриазолина (Галич Фарма, Украина, синтетической препарат), имупрета (Бионорика АГ, Германия) и полиоксидония (Петровакс Фарм, РФ). Статистическая обработка данных проведена с использованием параметрического критерия «t» Стьюдента [1].

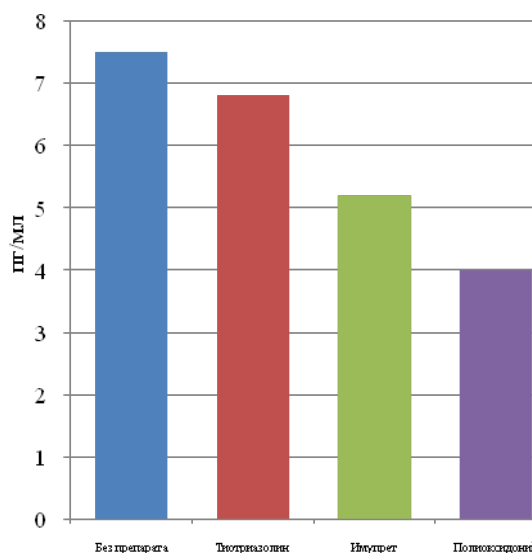
Результаты

Данные о влиянии препаратов на продукцию интерферонов представлены в табл. 1, из которой следует, что все исследованные препараты стимулировали спонтанную продукцию α -интерферона ($p < 0,05$), продукция γ -интерферона усиливалась при использовании полиоксидония и имупрета.

При изучении влияния препарата на продукцию эозинофильного фактора, каковым является интерлейкин-5, было выявлено, что имупрет и полиоксидоний снижали спонтанную продукцию данного цитокина (достоверная тенденция ($0,05 > p < 0,1$), влияние тиотриазолина было индифферентным (рисунок).

В табл. 2 представлены данные об исследовании влияния препаратов с иммуномодулирующим действием на продукцию интерлейкинов 1 и 10. Наиболее активным и достоверным было влияние препарата «имупрет», добавление которого снижало продукцию провоспалительного интерлейкина-1 β и не влияло существенно на продукцию противовоспалительного цитокина интерлейкина-10. Нужно отметить, что все препараты выявляли тенденцию к сниже-

нию активности клеток по продукции провоспалительного цитокина, тогда как спонтанную продукцию противовоспалительного цитокина стимулировал только полиоксидоний.



Влияние препаратов на продукцию *in vitro* интерлейкина-5 клетками крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины

Таблица 1

Концентрация интерферонов в культуральной жидкости при использовании различных иммуномодуляторов

Группы сравнения	Концентрация, пг/мл (M±m)	
	α -интерферон	γ -интерферон
Без препарата	6,5±2,0	9,5±2,5
Тиотриазолин	16,2±2,6*	21,8±3,6
Имупрет	20,2±3,3*	30,8±5,2*
Полиоксидоний	22,5±4,2*	35,5±4,5*

Примечание: * - достоверность отличий по отношению к группе «без препарата» ($p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние препаратов на продукцию провоспалительного и противовоспалительного цитокинов *in vitro* клетками крови у детей с ГГМ

Группы сравнения	Концентрация, пг/мл (M±m)	
	интерлейкин-1 β	интерлейкин-10
Без препарата	26,5±2,0	2,5±0,5
Тиотриазолин	16,2±2,6	6,8±2,6
Имупрет	10,2±2,3*	3,8±1,2
Полиоксидоний	15,5±4,4	15,5±3,5*

Примечание: * - достоверность отличий по отношению к группе «без препарата» ($p < 0,05$).

Анализ данных

Проведенные исследования по иммуномодулирующему действию на клетки крови двух новых синтетических иммуномодуляторов (тиотриазолин и полиоксидоний) и фитопрепарата (имупрет) показали разнонаправленность влияния препаратов на продукцию различных цитокинов эффекторными клетками системного иммунитета, что дает основание согласиться с мнением ряда авторов о необходимости

подбора препаратов для проведения комплексного лечения больных с гипертрофией миндалин лимфоидного кольца [3, 7, 8]. По сумме положительных иммуномодулирующих влияний на клетки крови у детей с гипертрофией миндалин преобладали полиоксидоний и имупрет, последний обладал и более выраженным противовоспалительным действием, что совпадает с данными О.Ф. Мельникова и соавторов [5].

Литература

1. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Киев: Полиграф Плюс, 2006. – 510 с.
3. Лайко А.А., Заболотний Д.І., Косаковский А.Л., Березнюк В.В., Заболотна Д.Д. та співавт. Гіпертрофія лімфаденоїдної тканини глотки. – Київ: Логос, 2009. – 175 с.
4. Мельников О.Ф. Экспериментальные исследования влияния имупрета и синупрета на ключевые параметры иммунитета / О.Ф. Мельников, М.Д. Тимченко, С.В. Тимченко, Р.И. Красий // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2010. – №5. – С. 55-59.
5. Мельников О.Ф., Заболотна Д.Д. Современные подходы к консервативной терапии хрониче-

- ского тонзиллита (клинико-иммунологические аспекты). – Киев. – 2012. – 80 с.
6. Мельников О.Ф., Пелешенко Н.А., Заболотная Д.Д., Рьльская О.Г. Иммуномодуляция фитопрепаратами в терапии воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей. – Киев, 2013. – 108 с.
7. Bredun O., Melnykov O. Immunological aspects in the selection of tonsils pathology treatment methods // The 8th International Symp. of Tonsills. – Zurich. – 2013. – Abstr. 02.
8. Musiatowicz M., Koda M., Sulkowski S. The TIMP-1 Expression in germinal centres of hypertrophied adenoids of Children // The 8th International Symp. of Tonsills. – Zurich, 2013. – Abstr. 09.
9. Ogasawara N., Takano N., et al., The Regulation of Adenoidal Tphitelial cells in children Upper respiratory Airway // The 8th International Symp. of Tonsills. – Zurich, 2013. – Abstr. 14.

References

1. Gubler EV. Mathematical methods of analysis and recognition of pathological processes. Leningrad: Medicine 1978. 294 p. Russian.
2. Drannik GN. Clinical immunology and allergology. Kiev: Polygraph Plyus; 2006. 510 p. Russian.
3. Layko AA, Zabolotny DI, Kosakovskiy AL, Berезnuk VV, Zabolotna DD. Gipertrofiya limfadenoidnoï tkanini glotki. – Kyiv: Logos, 2009. 175 p. Ukrainian.
4. Melnikov OF, Timchenko MD, Timchenko SV, Krasiy RI. Experimental study of the effect Imupret and Sinupret on key parameters of immunity. Zhurnal vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 2010;(5):55-9. Russian.
5. Melnikov OF, Zabolotna DD. Modern approaches to conservative treatment of chronic tonsillitis (clinical and immunological aspects). Kiev; 2012. 80 p. Russian.

6. Melnikov OF, Peleshenko NA, Zabolotny DD, Rylskaya OG. Immunomodulation herbal remedies in the treatment of inflammatory diseases of the upper respiratory tract. Kiev; 2013. 108 p. Russian.
7. Bredun O, Melnykov O. Immunological aspects in the selection of tonsils pathology treatment methods. Proceedings of the 8th International Symp. of Tonsills. Zurich; 2013. Abstr 02.
8. Musiatowicz M, Koda M, Sulkowski S. The TIMP-1 Expression in germinal centres of hypertrophied adenoids of Children. Proceedings of the 8th International Symp. of Tonsills. Zurich; 2013. Abstr 09.
10. Ogasawara N, Takano N. The Regulation of Adenoidal Ephetelial cells in children Upper respiratory Airway. Proceedings of the 8th International Symp. of Tonsills. Zurich; 2013. Abstr 14.

Поступила в редакцию 07.10.15.

© В.В. Сегал, 2015

ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ПРОДУКЦІЮ ЦИТОКІНІВ КЛІТИНАМИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ДІТЕЙ З ГІПЕРТРОФІЄЮ ГЛОТКОВОГО МИГДАЛИКА IN VITRO

Сегал В.В. (Київ)

А н о т а ц і я

Стан проблеми. За даними ряду дослідників, гіпертрофія мигдаликів лімфаденоїдного глоткового кільця в даний час розглядається як стан компенсації при недостатності локального або системного імунітету, що дає підставу для використання імуномодуляторів в комплексному консервативному лікуванні таких хворих. Поява нових засобів для імунокорекції диктує необхідність їх оцінки та порівняння з уже відомими препаратами.

Матеріали і методи. У роботі використовували культуру клітин крові від 19 дітей з гіпертрофією глоткового мигдалика II ступеня після їх видалення. Досліджували вплив in vitro імуномодуляторів – тіотриазоліну, поліоксидонію та імупрету. У надосадовій рідині визначався вміст α - і γ -інтерферонів, інтерлейкінів 1, 5, 10 із застосуванням набору реактивів ТОВ Цитокін (РФ) і аналізатора Stat Fax 2100 (США). Статистична обробка проведена із застосуванням критерію «t» Ст'юдента.

Результати. Дослідження показали різноспрямованість дії препаратів на продукцію різних цитокінів ефекторними клітинами системного імунітету, що дає підставу вважати необхідним підбір препаратів для проведення комплексного лікування хворих з гіпертрофією мигдаликів лімфоглоткового кільця. За сумою позитивних імуномодуючих впливів на клітини крові у дітей з гіпертрофією мигдаликів переважали поліоксидоній та імупрет.

Висновки. Отримані результати свідчать про необхідність підбору імуномодуляторів при комплексному лікуванні хворих з гіпертрофією глоткового мигдалика.

Ключові слова: Гіпертрофія глоткового мигдалика, імуномодулятори, клітини крові в культурі in vitro.

INFLUENCE OF IMMUNOMODULATORS OF DIFFERENT ORIGIN ON THE PRODUCTION OF CYTOKINES BY PERIPHERAL BLOOD CELLS OF CHILDREN WITH PHARYNGEAL TONSIL HYPERTROPHY IN VITRO. COMPARATIVE STUDY

Segal V.V.

Shupyk national medical academy of postgraduate education; e-mail: segallor@ukr.net

Abstract

Background. According to some researchers tonsillar hypertrophy lymphadenoid pharyngeal ring being considered as a state of compensation local or systemic immunity for failure, which provides a basis for the use of immunomodulators in complex conservative treatment of hypertrophy. The emergence of new immunocorrectors dictates the need for evaluation and comparison with known drugs.

Materials and methods. We used a cell culture of blood cells from 19 children with hypertrophy of the pharyngeal tonsil after its removal. We studied the effect in vitro of immunomodulators: Thiotriazoline, polioxidonium and Imupret. The supernatant examined the contents of α and γ – interferons, IL-1, IL -5, IL-10.

Results. Multidirectional modes of action of studied drugs on various immune effector cells allows us to consider the selection of essential drugs for the comprehensive treatment of patients with pharyngeal tonsils hypertrophy. Positive immunomodulatory effects on the blood cells of children with tonsils hypertrophy prevailed in polioxidonium and Imupret.

Conclusions. The results indicate the need for selection of immunomodulators in complex treatment of patients with hypertrophy of the pharyngeal tonsil.

Keywords: pharyngeal tonsil hypertrophy, immune modulators, blood cells in culture in vitro.