

УДК: 616. 24-002-02-056.3:616. 155.3-097.37]-092.9

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495389>

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ОКРЕМИХ ЦИТОКІНІВ У КРОВІ
МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ РОЗВИТКУ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ**

Сольвар З.Л.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

**ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ОТДЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В
КРОВИ МОРСКИХ СВИНОК В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО АЛЬВЕОЛИТА**

Сольвар З.Л.

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого.

**CHARACTERISTICS OF CHANGES IN INDIVIDUAL CYTOKINES IN
THE BLOOD OF GUINEA PIGS UNDER THE CONDITIONS OF THE
DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS.**

Solvar Z.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Summary/Резюме

The aim of this study was to find out changes of pro-inflammatory: interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF-6) and anti-inflammatory: interleukin-10 (IL-10) cytokines in the blood serum of guinea pigs under the conditions of experimental allergic alveolitis (EAA) development.

Experimental studies were conducted on 55 guinea pigs (males) weighing 300-350 g, divided into 5 groups of 9 animals in each, except for the first (10 animals): the first - healthy animals - control; the second group - animals with experimental allergic alveolitis EAA on the 4-th day of the experiment, the third group included guinea pigs with EAA on the 7-th day of disease simulation, the fourth - animals on the 14-th day of the experiment, and the fifth - animals with EAA on the 24-th day of observation. The experimental model of allergic alveolitis was reproduced on guinea pigs according to the method of O. Orekhov and Yu. A. Kyrlyov. In all groups of guinea pigs, the concentration of cytokines: TNF-6, IL-6, and IL-10 in blood serum was determined by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using test systems from the company "Diacclone" (France). Animals were euthanized by decapitation in compliance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Statistical processing of the obtained data was carried out according to the Student's method. The results indicate that under the conditions of experimental allergic alveolitis development there is a disruption of the cytokine balance, which is manifested by the activation of the pro-inflammatory fraction which is presented in our studies of TNF- 6 and IL-6. The opposite dynamics of changes was for the anti-inflammatory cytokine IL-10, which was persistently depressed,

especially in the late period of the experiment. The obtained data allow us to verify the role of an imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines' system with a predominant influence of the pro-inflammatory group in the pathogenetic mechanisms of the allergic alveolitis development.

Key words: *allergic alveolitis, inflammation, cytokines.*

Метою даного дослідження стало з'ясування змін рівнів прозапальних: інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і фактору некрозу пухлин (ФНП-б) та протизапальних: інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) цитокінів у сироватці крові морських свинок за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА). Експериментальні дослідження проводились на 55 морських свинках (самцях) масою 300 — 350 г, поділених на 5 груп по 9 тварин у кожній, крім першої (10 тварин): перша – здорові тварини – контроль; друга група - тварини з експериментальним алергічним альвеолітом ЕАА на 4-у добу експерименту, до третьої групи відносили морські свинки з ЕАА на 7-у добу моделювання хвороби, до четвертої - тварини на 14-у добу експерименту і до п'ятої – тварини з ЕАА на 24-у добу спостереження. Експериментальна модель алергічного альвеоліту відтворювалась на морських свинках за методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова. Усім групам морських свинок здійснювали визначення концентрації цитокінів: ФНП-б, ІЛ-6 та ІЛ-10 в сироватці крові за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням тест-систем фірми "Diacclone". Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стюдента.

Результати свідчать про те, що за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту відбувається порушення цитокінового балансу, яке проявляється активацією прозапальної фракції, що представлена у наших дослідженнях ФНП-б та ІЛ-6. Протилежна динаміка змін характерна для протизапального цитокіну - ІЛ-10, який зазнавав стійкої депресії, особливо в пізній період формування експерименту. Одержані дані дозволяють стверджувати про роль дисбалансу у системі про-та протизапальних цитокінів з переважаючим впливом прозапальної групи у патогенетичних механізмах розвитку алергічного альвеоліту.

Ключові слова: *алергічний альвеоліт, запалення, цитокіни.*

Целью данного исследования было изучение изменений уровней провоспалительных: интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухолей (ФНО-б) и противовоспалительных: интерлейкина-10 (ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови морских свинок при развитии экспериментального аллергического альвеолита (ЕАА). Экспериментальные исследования проводились на 55 морских свинках (самцах) массой 300-350 г, разделенных на 5 групп по 9 животных в каждой, кроме первой (10 животных): первая - здоровые животные - контроль; вторая группа - животные с экспериментальным аллергическим альвеолитом ЭАА на 4-е сутки эксперимента, к третьей группе относили морские свинки с ЭАА на 7-е сутки моделирования болезни, к четвертой - животные на 14-е сутки эксперимента и к пятой - животные с ЭАА на 24-е сутки наблюдения. Экспериментальная модель аллергического альвеолита воспроизводилась на морских свинках методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова.

Всем группам морских свинок осуществляли определение концентрации цитокинов: ФНО-б, ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови с помощью иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA) с использованием тест-систем фирмы "Diacclone" (Франция). Эвтаназию животных проводили декапитацией с соблюдением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Статистическую обработку полученных данных осуществляли по методу Стьюдента.

Результаты свидетельствуют о том, что при развитии экспериментального аллергического альвеолита происходит нарушение цитокинового баланса, которое проявляется активацией провоспалительной фракции, представленной в наших исследованиях ФНО-б и ИЛ-6. Противоположная динамика изменений характерна для противовоспалительного цитокина - ИЛ-10, который испытывал устойчивую депрессию, особенно в поздний период формирования эксперимента. Полученные данные позволяют утверждать роль дисбаланса в системе про- и противовоспалительных цитокинов с преобладающим влиянием провоспалительной группы в патогенетических механизмах развития аллергического альвеолита.

Ключевые слова: аллергический альвеолит, воспаление, цитокины.

Екзогенний алергічний альвеоліт— це група імунологічно опосередкованих захворювань, спричинених аномальною відповіддю на широкий спектр інгаляційних антигенів. Діагноз алергічного альвеоліту залишається дилемою через відсутність будь-яких характерних ознак, які б відрізняли його від інших інтерстиціальних захворювань легень[1,2]. Лімфоцитарний характер альвеоліту з активацією Т-лімфоцитів і альвеолярних макрофагів, місцевою продукцією лімфокінів є доказом основної ролі гіперчутливості уповільненого типу в розвитку захворювання[3]. Тому актуальним залишається питання ролі цитокінів у патогенезі розвитку даного захворювання.

Цитокіни - це невеликі секретовані білки (<40 кДа), які виробляються майже кожною клітиною для регулювання та впливу на імунну відповідь. Вивільнення прозапальних цитокінів призводить до активації імунних клітин і виробництва, а також вивільнення додаткових цитокінів [4,5]. Ефекти цитокінів залежать від клітини-мішені, що робить їх плеiotропними. Крім того, різні цитокіни мо-

жуть мати однаковий ефект, бути синергістами, і запускаючи сигнальні каскади мати руйнівний ефект. Останні дослідження показують, що одночасне вивільнення про- та протизапальних цитокінів є обов'язковим у будь-якій імунній відповіді[6,7].

Тому **метою** даного дослідження стало з'ясування змін рівнів прозапальних: інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і фактору некрозу пухлин (ФНП-б) та протизапальних: інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) цитокінів у сироватці крові морських свинок за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА).

Матеріал і методи дослідження

Експериментальні дослідження проводились на 55 морських свинках (самцях) масою 180 — 220 г, поділених на 5 груп по 9 тварин у кожній, крім першої (10 тварин): перша – здорові тварини – контроль; друга група - тварини з експериментальним алергічним альвеолітом ЕАА на 4-у добу експерименту, до третьої групи відносили морські свинки з ЕАА на 7-у добу моделювання хвороби, до четвертої - тварини на 14-у добу експерименту і до п'ятої – тварини з

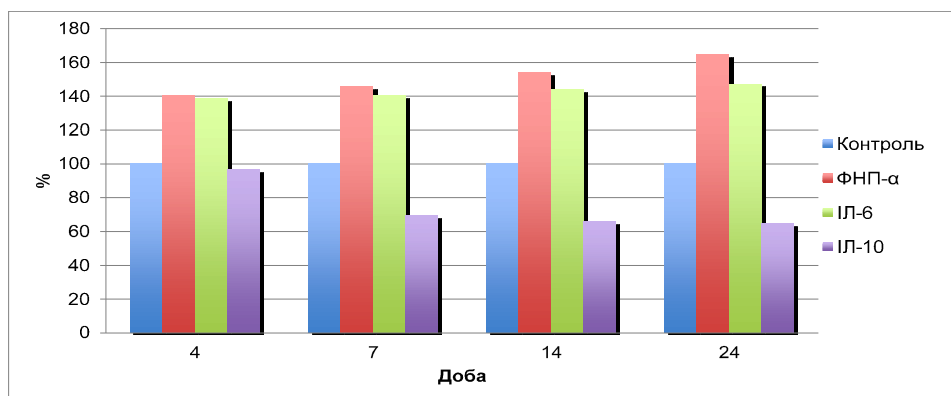


Рис.1 Рівень цитокінів у крові тварин в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту (% від контролю).

ЕАА на 24-у добу спостереження. Експериментальна модель алергічного альвеоліту відтворювалась на морських свинках за методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова[8]. Усім групам морських свинок здійснювали визначення концентрації цитокінів: ФНП-б, ІЛ-6 та ІЛ-10 в сироватці крові за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням тест-систем фірми “Diaclone” (Франція)

Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. У експериментальних дослідженнях було виявлено, що за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту спостерігаються різнонаправлені зміни про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові тварин. Зокрема, відзначалося стійке зростання рівня фактору некрозу пухлин альфа на 40,5% 45,9%, 54% та 64,9 % (pd 0,05) відповідно на 4-у, 7-у, 14- у, та 24-у доби проведення експерименту у порівнянні з групою інтактних тварин. Схожа тен-

денція змін спостерігалась і з інтерлейкіном-6, який також володіє прозапальною активністю. Так, даний показник зазнавав стійкого підвищення і досягав максимуму на 24-у добу спостереження, що становило 47,4 % (pd 0,05) проти контролю. Натомість рівень протизапального цитокіну - ІЛ-10 знижувався вже від початку експериментального моделювання хвороби і зазнавав найбільшої депресії на 24-й день хвороби - цей показник знижувався на 35,2 % (pd 0,05) проти контрольних величин (Рис.1)

Висновки

Оцінюючи результати досліджень, можна зробити висновок про те, що за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту відбувається порушення цитокінового балансу, яке проявляється активацією прозапальної фракції, що представлена у наших дослідженнях ФНП- б та ІЛ-6. Протилежна динаміка змін характерна для протизапального цитокіну- ІЛ-10, який зазнавав стійкої депресії, особливо в пізній період формування експерименту. Одержані дані дозволяють стверджувати про роль дисбалансу у системі про-та протизапальних цитокінів з переважаючим впливом прозапальної групи у патогенетичних механізмах розвитку алергічного альвеоліту.

Література

1. Janeway C.A. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1989;54:1–13
2. Hacker G., Redecke V., Hdcker H. 2002 Activation of the immune system by bacterial CpG-DNA Immunology.;105:245–251
3. Takeuchi O., Akira S. 2010 Pattern recognition receptors and inflammation. Cell. ;140:805–820
4. Cruickshank A.M., Fraser W.D., Burns H.J.G., Van Damme J., Shenkin A. 1990 Response of Serum Interleukin-6 in Patients Undergoing Elective Surgery of Varying Severity. Clin. Sci. 79:161–165
5. Gentile L.F., Cuenca A.G., Vanzant E.L., Efron P.A., McKinley B., Moore F., Moldawer L.L. 2013 Is there value in plasma cytokine measurements in patients with severe trauma and sepsis? Methods. ;61:3–9
6. Ковалевська Л. А. , Горбенко Т. Н. , Телятников О.В. , Богачик О.С. 2019 Особливості гострого екзогенного алергічного альвеоліту; труднощі в діагностиці. Актуальні проблеми транспортної медицини №4(58), с.112-114
7. Eunhesh S.Yi. 2008 Hypersensitivity pneumonitis. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. V.39. P.581-587
8. Орехов О. О., Кирилов Ю. А. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите 1985 . Архив патологии. № 10. С. 54–61

References

1. Janeway C.A. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1989; 54: 1–13
2. Hdcker G., Redecke V., Hdcker H. 2002 Activation of the immune system by bacterial CpG-DNA Immunology.; 105: 245–251
3. Takeuchi O., Akira S. 2010 Pattern recognition receptors and inflammation. Cell. 140: 805–820
4. Cruickshank A.M., Fraser W.D., Burns H.J.G., Van Damme J., Shenkin A. 1990 Response of Serum Interleukin-6 in Patients Undergoing Elective Surgery of Varying Severity. Clin. Sci. 79: 161–165
5. Gentile L.F., Cuenca A.G., Vanzant E.L., Efron P.A., McKinley B., Moore F., Moldawer L.L. 2013 Is there value in plasma cytokine measurements in patients with severe trauma and sepsis? Methods.; 61: 3–9
6. Kovalevska L.A, Gorbenko T.N., Telyatnikov O.V., Bogachik O.S. 2019 Features of severe exogenous allergic alveolitis; difficulties in diagnosis. Actual problems of transport medicine №4 (58), p.112-114
7. Eunhesh S.Yi. 2008 Hypersensitivity pneumonitis. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences. V.39. P.581-587
8. Orekhov O. O., Kirilov Yu. A. Pathomorphology of the lungs and microvasculature of the pulmonary circulation in chronic experimental allergic alveolitis 1985. Pathology archive. No. 10. P. 54–61

*Вперше надійшла до редакції 19.09.2022 р.
Рекомендована до друку на засіданні
редакційної колегії після рецензування*