

УДК 615:454.1:615.357:616-001.4:616.5

DOI: 10.24959/ubphj.17.102

Я. О. Бутко

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОЇДНОЇ ТЕРАПІЇ НА ФАГОЦИТАРНУ АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ ЗА УМОВ АЛЕРГІЧНОГО КОНТАКТНОГО ДЕРМАТИТУ

Актуальність. У зв'язку з підвищенням сенсibiliзації населення відмічається ріст алергічних захворювань шкіри, що є актуальною проблемою у медицині. Основним методом лікування дерматитів є глюкокортикостероїдна терапія, але при її застосуванні знижується імунітет у хворих, що призводить до розвитку тяжких побічних ефектів.

Метою роботи було дослідити вплив глюкокортикостероїдної терапії на фагоцитарну активність нейтрофілів за умов алергічного дерматиту.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на моделі динітрохлоробензолowego дерматиту у щурів. Фагоцитарну активність нейтрофілів оцінювали за фагоцитарним індексом та фагоцитарним числом, а стан імунної системи – за рівнем циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

Результати та їх обговорення. Встановлено, що крем із мометазоном і керамідами і мазь із метилпреднізолоном і керамідами не впливають на кількість фагоцитуючих нейтрофілів (фагоцитарний індекс) та на їх поглинальні властивості (фагоцитарне число), а також нормалізують рівень ЦІК.

Висновки. Отримані результати свідчать про нормальний перебіг фагоцитозу та імунний захист у тварин при проведенні місцевої глюкокортикостероїдної терапії за умов алергічного дерматиту.

Ключові слова: глюкокортикостероїди; алергічний дерматит; фагоцитарна активність нейтрофілів

Ia. O. Butko

Research of glucocorticosteroid therapy influence on neutrophils phagocytarial activity in allergic contact dermatitis conditions

Topicality. The population sensitization increases and in this connection they observe allergic skin diseases, which is an actual problem in medicine. The main dermatitis treatment is a glucocorticosteroid therapy, but it leads to reduced immunity and serious side effects in patients.

Aim. Research of glucocorticosteroid therapy influence on neutrophils phagocytarial activity in allergic contact dermatitis conditions.

Materials and methods. Studies were conducted on a model 2,4-Dinitrochlorobenzene dermatitis in rats. Neutrophil granulocyte phagocytic activity was assessed by phagocytic index and phagocytic number, and the immune system - by the level of circulating immune complexes (CIC).

Results and discussion. It was established that cream containing mometasone and ceramides, ointment containing methylprednisolone does not affect on neutrophil phagocytic activity and, at the same time, does not affect on the neutrophil phagocytic quantity (phagocytic index) and their absorbing properties (phagocytic number), as well as normalize CIC levels.

Conclusions. Obtained results indicate the normal course of phagocytosis and animals immune protection during the local glucocorticosteroid therapy in the allergic dermatitis conditions.

Key words: glucocorticosteroids; allergic dermatitis; phagocytic activity of neutrophils

Я. А. Бутко

Исследование влияния глюкокортикостероидной терапии на фагоцитарную активность нейтрофилов в условиях аллергического контактного дерматита

Актуальность. В связи с повышением сенсibiliзации населения отмечается рост аллергических заболеваний кожи, что является актуальной проблемой в медицине. Основным методом лечения дерматитов является глюкокортикостероидная терапия, но при её применении снижается иммунитет у больных, что приводит к развитию тяжелых побочных эффектов.

Целью работы было исследовать влияние глюкокортикостероидной терапии на фагоцитарную активность нейтрофилов в условиях аллергического дерматита.

Материалы и методы. Исследования были проведены на модели динитрохлорбензолowego дерматита у крыс. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по фагоцитарному индексу и фагоцитарному числу, а состояние иммунной системы – по уровню циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что крем с мометазоном и керамидами и мазь с метилпреднізолоном и керамидами не влияют на фагоцитарную активность нейтрофилов, в том числе и на количество фагоцитирующих нейтрофилов (фагоцитарный индекс) и на их поглотительные свойства (фагоцитарное число), а также нормализуют уровень ЦІК.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о нормальном течении фагоцитоза и иммунной защиты у животных при проведении местной глюкокортикостероидной терапии в условиях аллергического дерматита.

Ключевые слова: глюкокортикостероиды; аллергический дерматит; фагоцитарная активность нейтрофилов

ВСТУП

Поширення алергічного контактного дерматиту (АКД) останнім часом сягнуло великих масштабів, що визначає важливу медичну значущість проблеми його лікування [3, 9]. АКД є реакцією гіперчутливості сповільненого (клітинного) типу, яка опосередкована сенсibilізованими лімфоцитами, здатними посилювати імунну відповідь та запальну реакцію. У динаміці виходу медіаторів алергічного запалення ініціативна роль належить гістаміну та медіаторам, які викликають виражену вазодилатацію, а також індукують експресію молекул міжклітинної взаємодії, стимулюючи тим самим їх міграцію та продукцію цитокінів, макрофагів, впливають на імуногенез тощо [2, 10].

Глюокортикостероїди (ГКС) є препаратами вибору для лікування алергічного дерматиту [3, 4]. При цьому вони чинять імуносупресивну дію як на місці нанесення, так і системну дію за рахунок порушення міграції лейкоцитів, пригнічення функціональної активності лейкоцитів, зокрема їх фагоцитарну активність [6]. Тому місцеві ГКС повинні діяти переважно в зоні запалення і не повинні чинити системної супресорної дії на імунну та кровоносну системи, що дозволить запобігти розвитку тяжких побічних ефектів.

Метою нашої роботи було дослідити вплив ГКС терапії на фагоцитарну активність нейтрофілів та рівень імунних комплексів за умов алергічного контактного дерматиту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження були крем із мометазоном і керамідами та мазь із метилпреднізолоном із керамідами. Препарати розроблені під керівництвом проф. Ляпунова М. О. Препаратами порівняння були крем «Елоком» (містить мометазону фураат, виробник «Шерінг Плау», Бельгія) та мазь «Адвантан» (містить метилпреднізолону ацепонат, виробник «Шерінг АГ», Німеччина).

Алергічне запалення шкіри було відтворено на моделі АКД, де як сенсibilізатор використовували динітрохлоробензол (ДНХБ), що належить до групи азотомісних органічних сполук і є потужним алергеном [1]. Тварин сенсibilізували по 0,1 мл 5 % спиртовим розчином 2,4-ДНХБ за методом П. М. Залкан [1]. У досліді використано 108 щурів-самок масою 200-250 г, які були поділені на 6 груп (n = 18): 1 група – інтактні тварини; 2 група – контрольна патологія (КП), тварин не лікували, 3-6 групи – щури, яких лікували кремами мометазон із керамідами та «Елоком», маззю з метилпреднізолоном і керамідами та маззю «Адвантан» відповідно.

Для оцінки стану неспецифічної резистентності організму тварин визначали фагоцитарну активність нейтрофілів периферійної крові щурів [6, 8]. Як об'єкт фагоцитозу використовували 0,3 % суспензію пекарських дріжджів (0,07 мл), яку додавали у пробірку до гепаринізованої крові щурів (0,2 мл + 0,02 мл гепа-

рину). Обережно перемішували та інкубували впродовж 30 хв. Потім з крові робили мазки, висушували їх на повітрі і після фіксації метиловим спиртом забарвлювали за загальноприйнятим методом Романовського-Гімзе [5]. У мазках під імерсією на 100 лімфоцитів підраховували кількість клітин, що фагоцитували дріжджі (фагоцитарний індекс (ФІ), та кількість поглинутих клітин дріжджів одним нейтрофілом (фагоцитарне число (ФЧ).

Одним із компонентів імунної відповіді є утворення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), які викликають дегрануляцію клітин і викид медіаторів алергії. Тому, чим вище рівень ЦІК, тим більш виражений патологічний процес [6]. Для оцінки стану імунної системи згідно з методиками визначали циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) середнього та великого розміру, які виділяли преципітацією з поліетиленгліколем 6000 (PEG) у концентрації 3,5 % та 7 % відповідно, потім спектрофотометрично вимірювали оптичну густину (набір фірми «Гранум», Україна). Дослідження проводили у динаміці на 1-й, 4-й та 7-й день лікування.

Результати досліджень оброблені сучасними статистичними методами за допомогою програми «Statistica 6.0». Достовірність міжгрупової різниці встановлювали за допомогою параметричних та непараметричних методів. Рівень значущості відмінностей приймали при $p < 0,05$ [7].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході проведеного експерименту встановлено, що розвиток АКД супроводжується достовірним підвищенням фагоцитувальних нейтрофілів (ФІ збільшився в 1,4 рази) та їх поглинальних властивостей (ФЧ – в 1,1 рази), що свідчить про активацію фагоцитозу та імунного захисту у тварин, які виникають унаслідок пошкодження шкіри ДНХБ (табл. 1).

Таблиця 1

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ НА ФАГОЦИТАРНУ АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ У ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛЕРГІЧНОГО КОНТАКТНОГО ДЕРМАТИТУ, n = 5

Групи дослідю	Фагоцитарний індекс	Фагоцитарне число
Інтактний контроль	36,3 ± 3,33	1,6 ± 0,11
Контрольна патологія	52,2 ± 2,92*	1,8 ± 0,13 [#] ($p < 0,09$)
Крем МФ + К	54,4 ± 3,57*	2,0 ± 0,04*
Крем «Елоком»	44,8 ± 4,66	1,5 ± 0,05
Мазь МПА + К	52,2 ± 3,80*	1,7 ± 0,05
Мазь «Адвантан»	48,6 ± 4,88 [#] ($p < 0,06$)	1,6 ± 0,10

Примітка: * – відхилення достовірне по відношенню до групи інтактного контролю, $p < 0,05$; # – відмінності мають тенденцію достовірно значущих щодо даних групи інтактного контролю, $0,05 < p < 0,1$; МФ – мометазону фураат, МПА – метилпреднізолону ацепонат, К – кераміди; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2

**ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ НА ЦИРКУЛЮЮЧІ ІМУННІ КОМПЛЕКСИ 3,5 % ТА 7 % (у. о.)
У КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛЕРГІЧНОГО КОНТАКТНОГО ДЕРМАТИТУ, n = 5**

Групи досліджу	Дні лікування					
	1 день		4 день		7 день	
	3,5 %	7%	3,5 %	7%	3,5 %	7%
Інтактний контроль	0,090 ± 0,007	0,058 ± 0,004	0,102 ± 0,006	0,059 ± 0,003	0,093 ± 0,004	0,057 ± 0,003
Контрольна патологія	0,225 ± 0,021*	0,202 ± 0,014*	0,148 ± 0,013 */**	0,116 ± 0,012 */**	0,140 ± 0,009 */**	0,108 ± 0,005 */**
Крем МФ + К	0,256 ± 0,013*	0,198 ± 0,009*	0,133 ± 0,007 */**	0,085 ± 0,004 */**/**	0,126 ± 0,003 */**	0,087 ± 0,007 */**/**
Крем «Елоком»	0,230 ± 0,005*	0,196 ± 0,009*	0,134 ± 0,009 */**	0,081 ± 0,007 */**/**	0,127 ± 0,006 */**	0,075 ± 0,008 **/**
Мазь МПА + К	0,229 ± 0,009*	0,180 ± 0,005*	0,140 ± 0,005 */**	0,090 ± 0,010* /**/**	0,131 ± 0,006 */**	0,085 ± 0,006 */**/**
Мазь «Адвантан»	0,219 ± 0,009*	0,179 ± 0,011*	0,135 ± 0,007 */**	0,083 ± 0,005 */**/**	0,103 ± 0,004 */**	0,080 ± 0,003 */**/**

Примітка: * – відхилення достовірне по відношенню до групи інтактного контролю, $p < 0,05$; ** – до 1-го дня лікування, $p < 0,05$; *** – до групи контрольної патології, $p < 0,05$; МФ – мометазону фураат, МПА – метилпреднізолону ацепонат, К – кераміди; n – кількість тварин у групі.

При лікуванні тварин із АКД кремом із мометазоном і керамідами та маззю з метилпреднізолоном і керамідами встановлено, що препарати не впливають на фагоцитарну активність нейтрофілів та їх поглинальні властивості – значення ФІ та ФЧ були на рівні групи КП, яка характеризує природний імунний захист тварин при такій патології.

При застосуванні крему «Елоком» і мазі «Адвантан» реєстрували тільки підвищення ФІ, але ФЧ залишалося на рівні інтактного контролю. Ці зміни можуть свідчити про розвиток дефіциту поглинання нейтрофілів, оскільки при підвищенні кількості фагоцитів їх поглинальна активність не змінюється.

Отже, розвиток АКД супроводжується посилення активності фагоцитарної системи. Встановлено, що крем із мометазоном і керамідами і мазь з метилпреднізолоном і керамідами не впливають на фагоцитарну активність нейтрофілів, зокрема і на кількість фагоцитувальних нейтрофілів та їх поглинальну активність. При застосуванні крему «Елоком» і мазі «Адвантан» спостерігали тенденцію до зниження поглинальної активності нейтрофілів (у середньому на 14 %), що підтверджує негативну дію ГКС на функцію лейкоцитів.

Результати дослідження рівня імунних комплексів (табл. 2) показали, що після моделювання АКД рівень ЦІК середніх і великих розмірів достовірно зріс у 2,5 і 3,5 рази відповідно. На 4-й і 7-й дні досліджу в групі КП рівень ЦІК середніх розмірів достовірно знизився в 1,5 і 1,6 рази, а великих розмірів – в 1,7 та 1,9 рази відповідно (порівняно з 1-м днем спостережень).

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що вже після 4-го дня лікування досліджуваними кремами спостерігали достовірну тенденцію до зниження рівня ЦІК порівняно з 1-м днем лікування. Так, на 4-й і 7-й дні терапії у групах, яких лікували кремами мометазон із керамідами та «Елоком», рівень середніх розмірів ЦІК знизився в 1,9 і 2 рази та 1,7 і 1,8 рази,

а рівень великих розмірів ЦІК – у 2,3 рази та 2,4 і 2,6 рази відповідно (порівняно з 1-м днем лікування). При лікуванні маззю метилпреднізолоном із керамідами і «Адвантан» рівень середніх ЦІК достовірно знизився в 1,6 і 1,8 рази та 1,6 і 2,1 рази, а рівень ЦІК великих розмірів – у 2 і 2,1 рази та 2,2 рази відповідно (порівняно з 1-м днем лікування). Слід зазначити, що зниження великих ЦІК було достовірним і по відношенню до групи КП на 4-й і 7-й дні лікування, тоді як зниження середніх ЦІК у порівнянні з групою КП спостерігали лише в групі тварин, в якій застосовували мазь «Адвантан», на 7-й день лікування.

Отже, за результатами дослідження рівня ЦІК можна зробити висновок, що ДНХБ-дерматит у щурів супроводжується підвищенням ЦІК (середніх і великих розмірів) внаслідок збільшення утворення комплексу «антиген-антитіло». При лікуванні препаратами, що містять ГКС із керамідами, спостерігали зниження рівня цих ЦІК, що свідчить про активацію захисних властивостей організму.

ВИСНОВКИ

На підставі вивчення фагоцитарної активності нейтрофілів за умов алергічного дерматиту встановлено, що крем із мометазоном і керамідами та мазь з метилпреднізолоном і керамідами не впливають на кількість фагоцитуючих нейтрофілів (фагоцитарний індекс) та на їх поглинальні властивості (фагоцитарне число) та знижують рівень ЦІК. Це свідчить про нормальний перебіг фагоцитозу та імунний захист у тварин, що виникають внаслідок розвитку алергічного дерматиту.

Перспективним є подальше фармакологічне дослідження з метою підвищення ефективності та безпеки глюкокортикостероїдної терапії при лікуванні алергічних захворювань шкіри.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Дворянкова, Е. В. Стероидофобия в дерматологии – современная проблема из прошлого / Е. В. Дворянкова // Вестн. дерматол. и венерол. – 2015. – № 3. – С. 131–134.
2. Bordel-Gomez, M. T. Epidemiology of contact dermatitis: prevalence of sensitization to different allergens and associated factors / M. T. Bordel-Gomez, A. Miranda-Romero, J. Castrodeza-Sanz // *Actas Dermosifiliogr.* – 2010. – Vol. 101, Issue 1. – P. 59–75. doi : 10.1016/s1578-2190(10)70581-3.
3. Данилов, С. И. Сравнительная оценка активности адгезии и фагоцитоза агрегатов тромбоцитов нейтрофилами и моноцитами у больных atopическим дерматитом и псориазом / С. И. Данилов, С. Л. Кашутин, Ю. С. Дегтяр // *Клин. дерматол. и венерол.* – 2010. – № 4. – С. 59–61.
4. Novak, N. New insights into the mechanism and management of allergic diseases : atopic dermatitis / N. Novak // *Allergy.* – 2009. – Vol. 64, Issue 2. – P. 265–275. doi : 10.1111/j.1398-9995.2008.01922.x.
5. Дьяченко, Ю. Ю. Современные аспекты фармакотерапии алергодерматозов / Ю. Ю. Дьяченко // *Новая аптека.* – 2011. – № 6. – С. 87–89.
6. Лебедюк, М. Н. Изменение иммунологической реактивности у крыс с atopическим дерматитом под влиянием патогенетической терапии / М. Н. Лебедюк, А. А. Шандра // *Таврический мед.-биол. вестник.* – 2012. – Т. 15, № 3, ч.1(59). – С. 186–190.
7. Бунятян, Н. Д. Эффективность 5 % альтановой мази при контактном дерматите у крыс / Н. Д. Бунятян, В. В. Березнякова, Т. Ю. Глазкова // *Вестник ВГУ. Серия : Химия. Биология. Фармация.* – 2004. – № 1. – С. 160–162.
8. Barnett, J. V. Evaluating macrophages in immunotoxicity testing / J. V. Barnett, K. M. Brundage // *Methods Mol. Biol.* – 2009. – Vol. 598, Issue 7. – P. 75–94. doi : 10.1007/978-1-60761-401-2_6.
9. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2009. – 889 с.
10. Халафян, А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных : учебник / А. А. Халафян. – 3-е изд. – М. : ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.

REFERENCES

1. Dvoriankova, E. V. (2015). *Vestnik dermatologii i venerologii*, 3, 131–134.
2. Bordel-Gómez, M. T., Miranda-Romero, A., Castrodeza-Sanz, J. (2010). Epidemiology of Contact Dermatitis: Prevalence of Sensitization to Different Allergens and Associated Factors. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*, 101 (1), 59–75. doi: 10.1016/s1578-2190(10)70581-3
3. Danilov, S. I., Kashutin, S. L., Degtiar, Yu. S. (2010). *Klinicheskaia dermatologia i venerologia*, 4, 59–61.
4. Novak, N. (2009). New insights into the mechanism and management of allergic diseases: atopic dermatitis. *Allergy*, 64 (2), 265–275. doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01922.x
5. Diachenko, Yu. Yu. (2011). *Novaia apteka*, 6, 87–89.
6. Lebediuk, M. N., Shandra, A. A. (2012). *Tavrisheskii mediko-biologicheskii vestnik*, 15(3, 1 (59)), 186–190.
7. Buniatian, N. D., Berезniakova, V. V., Glazkova, T. Yu. (2004). *Vestnik VGU. Seriya: Khimiia. Biologiia. Farmatsiia*, 1, 160–162.
8. Barnett, J. V., Brundage, K. M. (2009). Evaluating Macrophages in Immunotoxicity Testing. *Immunotoxicity Testing*, 75–94. doi: 10.1007/978-1-60761-401-2_6
9. Kamyshnikov, V. S. (2009). *Spravochnik po kliniko-biokhimicheskim issledovaniiam i laboratornoi diagnostike*. Moscow: MEDpress-inform, 889.
10. Halafian, A. A. (2007). *STATISTICA 6. Statisticheskii analiz dannykh: uchebnik, 3-e izd.* Moscow: ООО «Binom-Press», 512.

Відомості про авторів:

Бутко Я. О., д-р фарм. н., доцент кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет. E-mail: yaroslavabutko79@mail.ru.

ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-6019-6330>

Information about authors:

Butko Ia. O., d. pharm. s., associate professor of the department of pharmacology, National University of Pharmacy. E-mail: yaroslavabutko79@mail.ru.

ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-6019-6330>

Сведения об авторах:

Бутко Я. А., д-р фарм. н., доцент кафедры фармакологии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: yaroslavabutko79@mail.ru. ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-6019-6330>

Рекомендовано д. мед. н., професором С. М. Дрогорово

Надійшла до редакції 20.02.2017 р.