

УДК: 636.2:618.619.615.015.4

ЗМІНИ ВМІСТУ ОКРЕМИХ ЦИТОКІНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ПСІВ ЗА ХРОНІЧНОГО ПРОСТАТИТУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ СИРОВАТКИ КОРДОВОЇ КРОВІ

С. В. Бондар

e-mail: healthvet@ukr.net

Сумський національний аграрний університет,
вул. Г. Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021, Україна

Незважаючи на істотне поширення простатитів у псів, наразі питання обґрунтування патогенетичних методів лікування є маловивченими, що є актуальним з теоретичної та практичної точки зору.

При простатиті у собак спостерігається виражений цитокіновий дисбаланс, який проявляється зростанням рівня прозапальних компонентів цитокінової системи за одночасного зниження вмісту функціонального антагоніста ІІ-4.

Встановлено, що гіперпродукція ІІ-1 і TNF, їх деструктивні ефекти в передміхуровій залозі, пов'язані з їх медіаторними властивостями як прозапальних цитокінів поглиблюються істотним зниженням концентрації опозитного до нього ІІ-4, що засвідчує низькі можливості інгібування продукції прозапальних цитокінів у запальному вогнищі.

Застосування введення аутологічної сироватки кордової крові призводить до різноспрямованих зрушень в цитокіновому профілі крові і свідчать про зниження експресії прозапальних і активації синтезу протизапальних цитокінів на десятию добу лікування, що в цілому обмежує прояв запальної реакції.

Встановлено, що застосування введення гетерогенної сироватки кордової крові за простатиту собак сприяє прискоренню корекції запальної реакції шляхом гальмування експресії прозапальних і стимуляції синтезу протизапальних цитокінів.

Ключові слова: простатит, сироватка кордової крові, цитокіни.

Постановка проблеми

Найбільш поширеною патологією передміхурової залози у псів є доброякісна гіперплазія передміхурової залози та різноманітні запальні процеси – простатити, які здебільшого виявляють у нерозв'язаних (інтактних) та некастрованих тварин із середнім віком 8, 9 років [1–5].

Незважаючи на істотне поширення простатитів у псів, наразі питання обґрунтування патогенетичних методів лікування є маловивченими, що є актуальним з теоретичної та практичної точок зору.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Розвиток запальної реакції як патогенетичної основи простатиту зумовлюється кінетикою міжклітинних взаємодій, що ініціюються та опосередковується через синтез різних груп медіаторів, особливо пептидної природи, серед яких ключове місце займають короткодистантні білково-пептидні фактори – цитокіни [6–9]. Класифікація цитокінів проводиться за їх хімічними та біологічними властивостями, а також типами рецепторів, за допомогою яких вони виконують свої біологічні функції. В залежності від того, які клітини імунної системи

переважно синтезують той чи інший цитокін, розрізняють лімфокіни, монокіни та інтерлейкіни. Вони, в свою чергу, можуть бути розподілені на прозапальні і протизапальні, ростові та диференціюючі фактори, регуляторні цитокіни. Дія цитокінів на клітини здійснюється різними шляхами: аутокринно – на клітину, що синтезує й секретує даний цитокін; паракринно – на клітини розміщені поруч із клітиною-продуцентом; ендокринно-дистанційно – на клітини будь-яких органів та тканин після потрапляння цитокіну в кровообіг [7–11]. Протизапальні цитокіни посилюють гуморальний та пригнічують клітинний імунітет за рахунок пригнічення продукції прозапальних цитокінів, тоді як останні є медіаторами запалення та деструкції тканин, посилюють клітинний та пригнічують гуморальний імунітет, стимулюють продукцію факторів росту [8].

Серед прозапальних і протизапальних цитокінів одними з ключових індукторів запальної реакції та регенерації є інтерлейкін-1 (ІІ-1) та інтерлейкін-4 (ІІ-4). Інтерлейкін – 1 є прозапальним цитокіном та медіатором гострого і хронічного запалення. Головними продуцентами ІІ-1 є фагоцитуючі мононуклеари – макрофаги та моноцити. Окрім цього,

здатністю до секреції ІЛ-1 володіють Т і В-лімфоцити, кератиноцити, фібробласти та нейтрофіли. ІЛ-1 ініціює та регулює запальну реакцію через активацію нейтрофілів, Т і В-лімфоцитів, стимуляцію синтезу протеїнів гострої фази гепатоцитами, інших цитокінів клітинами запального осередку, молекул адгезії, прокоагулянтів, простагландинів, підвищення хемотаксису, фагоцитозу, ексудації та цитотоксичну активність. Відомо, що ІЛ-1, також здатен викликати затримку спонтанного апоптозу активованих нейтрофілів, чим поглиблюється перебіг запально-деструктивних процесів, а також синтез сироваткового амілоїдного протеїну [7, 9, 13].

Іншим, одним із основних медіаторів запалення та найбільш поліфункціональних прозапальних цитокінів, є фактор некрозу пухлин (TNF α), що продукується макрофагами, моноцитами, кератиноцитами, Т-лімфоцитами, В-лімфоцитами, NK-клітинами, нейтрофілами та клітинами ендотелію. TNF α володіє множинними ефектами на різні типи клітин за рахунок модуляції експресії генів ростових факторів, цитокінів, факторів транскрипції, рецепторів клітинної поверхні та гострофазних протеїнів, стимулює катаболізм, активує синтез лізосомальних протеїназ та дегрануляцію нейтрофілів, пригнічує колагенсинтетичну активність фібробластів, справляє прокоагуляційний, цитотоксичний ефекти [9, 10, 13].

Останнім часом з'являються повідомлення про ще одну важливу функцію TNF α – здатність індукувати процес апоптозу імунокомпетентних клітин, клітин сполучної тканини, а також циркулюючих та ексудативних нейтрофілів через активацію клітинних каспаз, які виконують руйнацію внутрішньоклітинних компонентів [10] та ініціювати у зв'язку із цим розвиток імунозалежного запалення і аутоімунних захворювань через продукцію аутоантитіл до структурних компонентів клітин, що зазнали апоптозу.

Інтерлейкін – 4 є протизапальним цитокіном, продукується активованими Т-клітинами (Th2) та є фактором диференціювання для Т і В-лімфоцитів. Окрім цього, обмежена здатність до синтезу ІЛ-4 виявлена в тучних клітинах, базофілах та стромальних клітинах кісткового мозку [11]. Як функціональний антагоніст прозапальних цитокінів, ІЛ-4 гальмує секрецію макрофагами та моноцитами ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8,

фактору некрозу пухлин, утворення активних метаболітів оксигену й азоту, простагландинів, одночасно підвищуючи продукцію ними гранулоцитарного та моноцитарно-макрофагального колоніестимулювального фактору, тим самим здійснюючи протизапальну дію. Водночас, ІЛ-4 підвищує цитотоксичну активність макрофагів, посилює їх міграцію у вогнище запалення, поглиблює токсичність фактору некрозу пухлин, що призводить до фіброзних змін у тканині [13]. Дисрегуляція секреції ІЛ-4 є ключовим фактором у розвитку алергічних реакцій, що пов'язане із здатністю останнього змінювати синтез імуноглобулінів класу G на E та стимуляції росту тканинних базофілів і синтезу ними прозапальних алергогенних інтерлейкінів – 5, 6 [7,9].

Мета, завдання та методика досліджень

Метою роботи було патогенетичне обґрунтування застосування сироватки кордової крові за простатиту у псів.

Дослідження проводилися на базі центру ветеринарної медицини «Хелс», м. Суми таклініки кафедри акушерства та хірургії Сумського національного аграрного університету. Тваринам з діагностованим хронічним простатитом застосовували внутрішньом'язове введення аутологічної та гетерогенної сироватки кордової крові в дозі 0,3 мл на кг маси тіла, дворазово, з інтервалом у тиждень годин.

З метою оцінки клінічної ефективності, комплексного застосування гомо та гетерогенної сироватки кордової крові на тлі базисної антибіотикотерапії (енрофлоксацин 5%, KRKA, Словенія), тварин із хронічним простатитом, було поділено на дві групи – дослідну (n=9) та контрольну (n=9), що отримували базисну антибіотикотерапію енрофлоксацином. В дослідній групі додатково застосовували внутрішньом'язове введення гетерогенної сироватки кордової крові, а в контрольній – аутологічну сироватку кордової крові за внутрішньом'язових ін'єкцій.

Дослідження крові хворих на простатит псів проводили до лікування та на 5-у і 10-у добу від початку застосування сироватки кордової крові.

Вміст TNF α , ІЛ-1 та ІЛ-4 у сироватці крові проводили методом твердо-фазного імуноферментного ELISA аналізу із

використанням тест-системи PeninsulalaboratoriesInc (USA).

Отриманий цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики з використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень

Як видно з даних, наведених у таблиці, концентрація прозапальних цитокінів – IL-1 та TNF у сироватці крові тварин за простатиту

Таблиця 1. Зміни цитокінового профілю крові псів за хронічного простатиту

Показники	Групи тварин		p<
	клінічно здорові тварини, n=10	хворі на простатит, n=18	
IL-1, pg/ml	1,12±0,11	3,24±1,08	0,01
IL-4, pg/ml	0,95±0,09	0,63±0,51	0,1
TNF, pg/ml	2,37±1,23	5,16±1,84	0,01

Порушення продукції IL-1 клітинами моноцитарного походження в бік його збільшеного синтезу супроводжується надлишковими симптомами запалення та є центральною ланкою розвитку глибоких деструктивних процесів у запальному осередку.

Отже, гіперпродукція IL-1 та TNF, їх деструктивні ефекти в передміхуровій залозі,

зазнає істотного зростання у 2,9 та 2,2 раза порівняно із інтактними тваринами, відповідно. Водночас, уміст IL-4 як протизапального цитокіну, навпаки, знижується, в 1,5 раза, відносно клінічно здорових тварин. Отже, за простатиту, в псів, спостерігається виражений цитокіновий дисбаланс, що проявляється у зростанні рівня прозапальних компонентів цитокінової системи, за одночасного зниження вмісту функціонального антагоністу IL-4.

пов'язані з їх медіаторними властивостями як прозапальних цитокінів поглиблюються істотним зниженням концентрації опозитного до нього IL-4, що засвідчує низькі можливості інгібування продукції прозапальних цитокінів у запальному осередку.

Таблиця 2. Зміни цитокінового профілю крові псів за хронічного простатиту при використанні аутологічної сироватки кордової крові

Показники	Групи тварин		Перебіг лікування	
	клінічно здорові тварини, n=10	хворі на простатит, n=18	5-а доба, n=9	10-а доба, n=9
IL-1, pg/ml	1,12±0,11	3,24±1,08	5,13±1,48	2,71±0,59
IL-4, pg/ml	0,95±0,09	0,63±0,51	0,56±0,72	0,72±0,34
TNF, pg/ml	2,37±1,23	5,16±1,84	6,85±2,03	4,24±1,05

Протизапальні цитокіни посилюють гуморальний та пригнічують клітинний імунітет за рахунок пригнічення продукції прозапальних цитокінів, тоді як останні є медіаторами запалення та деструкції тканин, посилюють клітинний та пригнічують гуморальний імунітет, стимулюють продукцію факторів росту.

Дослідження цитокінового профілю у псів із простатитом, за застосування аутологічної сироватки крові, вказують на різноспрямовані зрушення у співвідношенні прозапальних і протизапальних цитокінів.

Так, уміст прозапальних цитокінів IL-1 та TNF вже після другого введення

аутосироватки (5-а доба спостережень) зазнає зростання у 1,6 та 1,3 раза, порівняно з показником до лікування, що свідчить про загострення запальної реакції та мобілізацію флогогенного потенціалу. Зростання концентрації прозапальних цитокінів, відбувалося за одночасного зниження рівня опозитного до них IL-4, майже в 1,3 раза, порівняно з показником до лікування.

Однак, вже на 10-у добу лікування рівні IL-1 та TNF, відносно показника 5-ї доби та до лікування знизився в 1,9 і 1,2 раза та 1,6 і 1,2 раза, відповідно.

У той же час, відбувалося й зростання вмісту ІЛ-4, відносно показника 5-ої доби та до лікування, що склало 1,2 та 1,3 рази, відповідно.

Таким чином, наведені вище різноспрямовані зрушення у цитокиновому профілі крові свідчать про зниження експресії прозапальних та активації синтезу протизапальних цитокинів на 10-у добу лікування ін'єкціями ауто сироватки крові, що в цілому обмежує прояв запальної реакції.

Вивчення маркерів резистентності та реактивності макроорганізму, що визначається

станом імунної системи і реалізується через систему цитокинів, в умовах деструктивно-регенеративних процесів та використання біологічно активних препаратів слід вважати актуальним напрямком у ветеринарній медицині.

Як видно з даних, наведених у таблиці, використання гетерогенної сироватки кордової крові за простатиту у псів, сприяє зростанню вмісту в крові прозапальних та протизапальних цитокинів вже на 5-у добу досліджень.

Таблиця 3. Зміни цитокинового профілю крові псів за хронічного простатиту при використанні гетерогенної сироватки кордової крові

Показники	Групи тварин		Перебіг лікування	
	клінічно здорові тварини, n=10	хворі на простатит, n=18	5-а доба, n=9	10-а доба, n=9
ІЛ-1, pg/ml	1,12±0,11	3,24±1,08	4,88±1,17	1,69±0,82
ІЛ-4, pg/ml	0,95±0,09	0,63±0,51	0,74±0,36	1,12±0,74
TNF, pg/ml	2,37±1,23	5,16±1,84	5,65±1,23	3,06±1,12

Зокрема, рівень прозапальних цитокинів – ІЛ-1 та TNF зростає відносно показника до лікування на 42,7% ($p < 0,001$) та 9,5%, відповідно. Зростання вмісту ІЛ-1 та TNF, було контрольованим з боку протизапальних цитокинів, про що свідчило зростання рівня ІЛ-4, яке склало майже 17,5%. На 10-у добу спостережень відмічалось істотне зниження концентрації прозапальних ІЛ-1 та TNF, порівняно з показником на початку лікування на 47,8% ($p < 0,001$) та 40,7% ($p < 0,001$), відповідно. Водночас, рівень протизапального ІЛ-4 й надалі зазнавав зростання по відношенню до попередньої доби досліджень та показника до лікування на 51,4% ($p < 0,001$) та 77,8% ($p < 0,001$), відповідно.

Таким чином, сироватка гетерогенної кордової крові за простатиту у псів сприяє прискоренню корекції запальної реакції через гальмування експресії прозапальних цитокинів та стимуляції синтезу протизапальних, що реалізується через низку специфічних плацентарних білків, гормонів, ростових факторів, цитокинів, гемопоетичних факторів, опіюїдних пептидів, ферментів і проферментів, вітамінів, мікроелементів та репродуктивних імуномодуляторів, що входять до складу кордової крові [14, 15].

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Хронічний простатит у псів супроводжується змінами цитокинового профілю: збільшенням вмісту сироваткових ІЛ-1 та TNF до 3,24±1,08pg/ml та 5,16±1,84 pg/ml, відповідно, за одночасного зниження рівня ІЛ-4 до 0,63±0,51pg/ml.

2. Комплексне застосування енрофлоксацину та аутологічної сироватки кордової крові за хронічного простатиту у псів, сприяє на 10-у добу лікування зниженню вмісту в сироватці крові ІЛ-1 до 2,71±0,59pg/ml, TNF до 4,24±1,05pg/ml, зростанню ІЛ-4 до 0,72±0,34 pg/ml.

3. Уміст сироваткових ІЛ-1 та TNF при використанні гетерогенної сироватки кордової крові за хронічного простатиту в псів на 10-у добу лікування наближається до значень клінічно здорових тварин, знижуючись для ІЛ-1 та TNF до 1,69±0,82pg/ml та 3,06±1,12 pg/ml, а рівень ІЛ-4, навпаки зростає до 1,12±0,74pg/ml.

Перспективою подальших досліджень є з'ясування змін цитокинового профілю сироватки крові псів за гострого простатиту та доброякісної гіпертрофії простати.

References

1. Krawiec, D. R. & Heflin, D. (1992). Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981–1986). *JAVMA*, 200 (8), 1119–1122.
2. Swinney, G. R. (1998). Prostatic neoplasia in five dogs. *Aust. Vet. J.*, 76 (10), 669–674.
3. Kozlov, E. M. (2004). Bolezni predstatelnoy zhelezy u kobeley [Diseases of the prostate in males]. *Veterinarnaya klinika*, 1, 14–16 [in Russian].
4. Telpukhov, V. I. (2002). Diagnostika i lecheniye zabolevaniy predstatelnoy zhelezy u sobak [Diagnosis and treatment of prostate diseases in dogs]. *Materialy X Moskovskogo mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa* (pp. 79–80). Moskva [in Russian].
5. Baynbridzh, D. & Elliot, D. (Eds.) (2003). Nefrologiya i urologiya sobak i koshek [Nephrology and urology of dogs and cats] (pp. 204–217). Moskva. Akvarium LTD [in Russian].
6. Simbirtsev, A. S. (2004). Tsitokiny: klassifikatsiya i biologicheskiye funktsii [Cytokines and inflammation]. *Tsitokiny i vospaleniye*, 3 (2), 16–22.
7. Kovaleva, O. N. & Ambrosova, T. N. (2001). Biologicheskiye efekty interleykina-1 [Biological effects of interleukin-1]. *Vrachebnaya praktika*, 2, 49–53 [in Russian].
8. Freydlin, I. S. (2001). Parakrinnyye i autokrinnyye mekhanizmy tsitokinovoy immunoregulyatsii [Paracrine and autocrine mechanisms of cytokine immunoregulation]. *Immunologiya*, 5, 4–7 [in Russian].
9. Serebrennikova, S. N., Seminskiy, I. Zh. & Semenov, N. V. (2009). Vliyaniye tsitokinov na kletki ochaga vospaleniya [Effect of cytokines on inflammatory cells]. *Problemy i perspektivy sovremennoy nauki*, 2 (1), 20–22 [in Russian].
10. Vetra, Ya. Ya., Ivanova, L.V. & Kreyle, I. E. (2000). Tsitokiny [Cytokines]. *Gematologiya i transfuziologiya*, 45 (4), 45–49 [in Russian].
11. Bottema, W. B., Nottle, L. M. & Howard, T. D. (2010). Interleukin 13 and interleukin 4 Receptor- α Polymorphism in Rhinitis and Asthma. *Allergy and Immunology*, 153 (7), 259–267.
12. Ryabicheva, T. G., Varaksin, N. A. & Timofeyeva, N. V. (2004). Opredeleniye tsitokinov metodom immunofermentnogo analiza. *Novosti «Vektor-Best»*, 4 (34), 12–16 [in Russian].
13. Demianov, A. V., Kotov A. Yu. & Simbirtsev, A. S. (2003). Diagnosticheskaya

tsennost issledovaniya urovney tsitokinov v klinicheskoy praktike [The diagnostic value of the study of cytokine levels in clinical practice]. *Tsitokiny i vospaleniye*, 2 (3), 20–33 [in Russian].

14. Murohara, T. (2000). Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J. Clin. Invest.*, 105, 1527–1536.

15. Babiychuk, L. A., Zubov, P. M., Ryazantsev, V. V., Zubova, O. L., Kudokotseva, O. V. & Gurina, T. M. (2009). Kordovaya krov – alternativnyy istochnik stvolovykh kletok dlya regenerativnoy meditsiny: novyye podkhody k probleme kriokonservirovaniya [Cord blood - an alternative source of stem cells for regenerative medicine: new approaches to the problem of cryoconservation]. *Bukovynskiy medychnyi visnyk*, 13 (4), 23–26 [in Russian].

CHANGES IN THE CONTENT OF INDIVIDUAL CYTOKINES IN THE BLOOD SERUM OF DOGS FOR CHRONIC PROSTATITIS WITH THE USE OF CORD BLOOD SERUM

S. Bondar

e-mail: healthvet@ukr.net

Sumy national agrarian university

160, H. Kondratiev, Sumy, 40021, Ukraine

Despite the significant spread of prostatitis in males, today the questions of substantiation of pathogenetic methods of treatment are poorly understood, which is relevant from the theoretical and practical point of view.

With prostatitis in dogs, a marked cytokine imbalance is observed, which is manifested by an increase in the level of proinflammatory components of the cytokine system, while a decrease in the content of the functional antagonist IL-4.

It has been established that the hyperproduction of IL-1 and TNF, their destructive effects in the prostate gland associated with their mediator properties, as pro-inflammatory cytokines are exacerbated by a significant reduction in the concentration of the opposing IL-4, indicating low inhibition of production of pro-inflammatory cytokines in the inflammatory focus.

Application of the introduction of autologous cord blood serum leads to multidirectional shifts in the cytokine blood profile and indicate a decrease in the expression of proinflammatory and activation of the synthesis of anti-inflammatory cytokines on the

tenth day of treatment, which generally limits the manifestation of the inflammatory response.

It has been established that the use of the introduction of heterogeneous cord blood serum in dogs with prostatitis promotes the acceleration of correction of the inflammatory reaction by inhibiting the expression of proinflammatory and stimulating the synthesis of anti-inflammatory cytokines.

Keywords: prostatitis, serum cord blood, cytokines.

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СОБАК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПРОСТАТИТЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СЫВОРОТКИ КОРДОВОЙ КРОВИ

С. В. Бондар

e-mail: healthvet@ukr.net

Сумской национальный аграрный университет
ул. Г. Кондратьева, 160, г. Сумы, 40021, Украина

Несмотря на существенное распространение простатитов у кобелей, на сегодняшний день вопросы обоснования патогенетических методов лечения являются малоизученными, что является актуальным с теоретической и практической точек зрения.

При простатите у собак, наблюдается выраженный цитокиновый дисбаланс, который проявляется ростом уровня провоспалительных компонентов цитокиновой системы при

одновременном снижении содержания функционального антагониста ИЛ-4.

Установлено, что гиперпродукция ИЛ-1 и TNF, их деструктивные эффекты в предстательной железе, связанные с их медиаторными свойствами как провоспалительных цитокинов усугубляются существенным снижением концентрации оппозитного к нему ИЛ-4, удостоверяющий низкие возможности ингибирования продукции провоспалительных цитокинов в воспалительном очаге.

Применение введения аутологичной сыворотки кордовой крови приводит к разнонаправленным сдвигам в цитокиновом профиле крови и свидетельствуют о снижении экспрессии провоспалительных и активации синтеза противовоспалительных цитокинов на десятые сутки лечения, что в целом ограничивает проявление воспалительной реакции.

Установлено, что применение введения гетерогенной сыворотки кордовой крови при простатите у собак способствует ускорению коррекции воспалительной реакции путем торможения экспрессии провоспалительных и стимуляции синтеза противовоспалительных цитокинов.

Ключевые слова: простатит, сыворотка кордовой крови, цитокины.