

КОНЦЕНТРАЦИЯ IgG И IgM ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКТАЛЬНЫХ СУППОЗИТОРИЕВ С ВИТАМИНОМ D3

© 2019 г. Е. В. Симомян, М. С. Бойко*

*E-mail: ri-tochka9@list.ru

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский Государственный Медицинский Университет»
Минздрава РФ, Челябинск, Россия

Поступила: 26.05.2019. Принята: 28.06.2019

Базисная терапия язвенного колита (ЯК) включает производные 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), глюкокортикоиды и др. средства, которые имеют побочные эффекты, ограничивающие их применение, в связи с этим необходим поиск и обоснование применения новых средств фармакотерапии. Цель работы — изучить влияния ректальных суппозиторий с витамином D3 на концентрацию в сыворотке IgG и IgM при экспериментальном ЯК. Работа выполнена на 70 крысах линии Wistar. ЯК моделировали ректальным введением 3% раствора оксазолон. Водный раствор витамина D3 в составе ректальных суппозиторий оригинального состава на основе полиэтиленгликоля применяли каждые 12 часов, в группе сравнения по той же схеме применяли ректальные суппозитории с 5-АСК. Концентрацию в сыворотке IgG и IgM определяли иммуноферментным методом с помощью специфических тест-систем на 2, 4 и 6 сутки эксперимента. В ходе работы была выявлено статистически значимое снижение концентрации иммуноглобулинов в условиях применения ректальных суппозиторий с витамином D3 на 4 и 6 сутки экспериментального язвенного колита.

Ключевые слова: язвенный колит, витамин D3, IgG, IgM, ректальные суппозитории

DOI: 10.31857/S102872210007271-3

Адрес: 454092 Челябинск, ул. Воровского, д. 64, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский Государственный Медицинский Университет» Минздрава РФ, Бойко Маргарита Сергеевна.

Тел.: 8 982 288 07 18; E-mail: ri-tochka9@list.ru

Авторы:

Симомян Е. В., к.фарм.н., доцент, заведующая кафедрой химии и фармации фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

Бойко М. С., ассистент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для базисной терапии язвенного колита (ЯК) используют производные 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), глюкокортикоиды, цитостатики, антицитокининовые и др. препараты с различным механизмом противовоспалительного действия и обладающие широким спектром побочных эффектов: головная боль, слабость, лихорадка, диспепсия,

агранулоцитоз, нарушения всасывания фолиевой кислоты, развитие резистентности к терапии. В связи с этим, актуальным и востребованным в клинической практике является поиск, разработка состава и обоснование применения новых лекарственных средств. В частности, интерес представляет витамин D3, обладающий противовоспалительным, иммуностимулирующим действием, его положительный эффект был описан при других аутоиммунных заболеваниях, таких как сахарный диабет I типа, ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др. [1, 2].

Известно, что при ряде аутоиммунных заболеваний, в том числе воспалительных заболеваниях кишечника, уровень IgG и IgM возрастает, что имеет значение в прогрессировании и тяжести течения ЯК и рассматривается как один из ключевых этапов патогенеза [3]. Полагаем, что определение уровня IgM и IgG в сыворотке при экспериментальном ЯК, в том числе

в условиях применения ректальных суппозиторий с 5-АСК, ректальных суппозиторий с витамином D3 позволит, во-первых, проанализировать роль В-клеточного звена иммунитета в патогенезе ЯК, во-вторых, даст провести сравнительную оценку влияния витамина D3 на гуморальные факторы адаптивного иммунитета и рассматривать его как потенциальный терапевтический агент при ЯК.

Цель работы. Провести сравнительный анализ влияния витамина D3 в составе ректальных суппозиторий на концентрацию в сыворотке IgG, IgM при экспериментальном ЯК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 70 белых крысах линии Wistar массой 240–260 г. Сформировано 4 группы: I (n=7) – интактный контроль; II (n=21) – животные с ЯК; III (n=21) – животные с ЯК в условиях применения каждые 12 часов ректальных суппозиторий с 5-АСК; IV (n=21) – животные с ЯК в условиях применения каждые 12 часов ректальных суппозиторий на основе полиэтиленгликоля с 10% водным раствором витамина D3 оригинального состава (тема охраноспособна). ЯК моделировали двухэтапным ректальным введением 3% оксазолон («Sigma-aldrich», USA). На первом этапе модели проводили кожную сенсibilизацию животного нанесением на предварительно выбрившую меж-

лопаточную область 150 мкл 3% раствора оксазолон предварительно растворенного в 100% этиловом спирте. Вторым этапом заключался в ректальном введении на глубину 7–8 см 3% раствора оксазолон предварительно растворенного в 50% этиловом спирте. Верификацию ЯК осуществляли с помощью морфологических и клинических методов. Исследования проводили на 2, 4 и 6 сутки от индукции ЯК. Концентрации IgG и IgM в сыворотке определяли с применением специфических для крыс тест-систем фирмы «ELISA Kit» (Китай) с помощью автоматического иммуноферментного анализатора «Personal LAB» (Италия). Данные обрабатывали с помощью пакета программ «Statistica 10.0 for Windows» с использованием непараметрических критериев Краскелла-Манна-Уитни, Вальда Вольфовитца, Колмогорова-Смирнова. Отличия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что при экспериментальном ЯК концентрация в сыворотке IgM возрастает на 2, 4, 6 сутки наблюдения и достигает максимальных значений на 6 сутки, концентрация IgG в сыворотке возрастает на 2, 4 и 6 сутки наблюдения с максимумом на 4 сутки (**Таблица 1**). Применение при экспериментальном ЯК базисной терапии – ректальных суппозиторий

Таблица 1. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке при экспериментальном язвенном колите и в условиях применения ректальных суппозиторий с витамином D3 (Me(Q₂₅-Q₇₅))

Показатели	Ig G, г/л	Ig M, г/л
Группа 1 Интактные (n=7)	3,23(3,05–7,27)	12,71(11,82–17,64)
Группа 2a ЯК 2 сутки (n=7)	10,51(10,32–10,67)*	29,98(29,63–60,58)*
Группа 2b ЯК 4 сутки (n=7)	11,69(10,84–33,33)*	32,45(31,39–35,62)*
Группа 2c ЯК 6 сутки (n=7)	10,58(10,51–16,66)*	34,22(29,63–34,92)*
Группа 3a ЯК+5-АСК 2 сутки (n=7)	6,66(3,36–8,41)#	25,05(25,05–25,04)*#
Группа 3b ЯК+5-АСК 4 сутки (n=7)	7,01(4,48–8,06)\$	22,57(20,46–23,99)*\$
Группа 3c ЯК+5-АСК 6 сутки (n=7)	6,31(5,01–7,79)&	20,81(20,81–21,87)*&
Группа 4a ЯК+VD3 2 сутки (n=7)	9,81(8,23–10,15)*	27,16(26,45–27,16)*
Группа 4b ЯК+VD3 4 сутки (n=7)	5,26(4,13–8,41)\$	21,52(21,16–21,52)*\$
Группа 4c ЯК+VD3 6 сутки (n=7)	9,54(7,53–9,63)*&	20,46(15,52–21,87)&

Примечание: * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с группой интактных животных; # – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с группой ЯК на 2 сутки; \$ – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с группой ЯК 4 сутки; & – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с группой ЯК на 6 сутки;

с 5-АСК — приводит к снижению концентрации в сыворотке IgM на 2, 4 и 6 сутки с максимальной выраженностью эффекта на 6 сутки наблюдения; концентрация IgG в сыворотке снижается на 2, 4 и 6 сутки наблюдения с максимальной выраженностью эффекта на 6 сутки эксперимента (Таблица 1). Отметим, что концентрация IgG достигает значений в группе интактных животных на 6 сутки. Концентрация IgM не достигает значений в группе интактных животных во все сроки наблюдения.

Нами разработан состав и проведен комплекс фармакотехнологических исследований новой лекарственной формы с витамином D3 — ректальных суппозиториев (тема охраноспособна). Применение у крыс ректальных суппозиториев с витамином D3 приводит к снижению концентрации в сыворотке IgM на 4 и 6 сутки наблюдения, с максимальным эффектом на 6 сутки. Концентрация IgG в сыворотке снижается на 4 и 6 сутки, с максимальным эффектом на 4 сутки эксперимента (Таблица 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

При экспериментальном ЯК установлено повышение концентрации в сыворотке IgG и IgM, что отражает роль Th2-зависимого иммунного ответа в патогенезе повреждения клеток слизистой оболочки толстого кишечника. Известно, что CXCL8, ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-8 и др. цитокины активируют миграцию, адгезию, дегрануляцию, генерацию активных форм кислорода в фагоцитах, хемотаксис Т-лимфоцитов, дифференцировку В-клеток, секрецию иммуноглобулинов, подавление Th1-зависимых реакций, что сопровождается деструктивными изменениями слизистой оболочки толстого кишечника, локальными и системными клиническими проявлениями при ЯК [4].

Продемонстрированный нами при экспериментальном ЯК иммуностимулирующий эффект 5-АСК в виде снижения продукции иммуноглобулинов при локальном применении отражает известный механизм подавления продукции провоспалительных медиаторов, включая лейкотриены, интерлейкин-1 β , 6, ИЛ-8, ФНО- α , миграции и киллинговых функций фагоцитов, снижение Th2-зависимых реакций [5].

Новыми являются сведения об иммуномодулирующих свойствах витамина D3 в составе ректальных суппозиториев при ЯК. Полагаем, что данный факт обусловлен участием витамина D3 в регуляции пролиферации и дифференциров-

ки клеток, в том числе, иммунокомпетентных клеток. Открытие рецепторов для витамина D3 (VDR) на клетках иммунной системы (активированных Т-лимфоцитах, макрофагах, незрелых лимфоцитах тимуса и зрелых CD8-клетках) предполагает его участие в функционировании иммунной системы, реализации иммунного ответа, в том числе при патологии [6]. Показано, что витамин D3 непосредственно модулирует пролиферацию Т-лимфоцитов, подавляет развитие Th17-клеток, замедляет дифференцировку В-клеток-предшественников в плазматические клетки, ингибирует продукцию Th1-ассоциированных цитокинов и молекул (CD40, CD80 и CD86).

Полученные результаты расширяют сведения об иммуностимулирующих свойствах витамина D3 при локальном применении в составе ректальных суппозиториев при ЯК. Данное исследование является фрагментом комплексной работы по доклиническому изучению и патогенетическому обоснованию применения ректальных суппозиториев с витамином D3 при воспалительных заболеваниях кишечника.

ВЫВОДЫ

1. При экспериментальном язвенном колите, индуцированном ректальным введением оксазолана, в сыворотке крыс увеличивается концентрация IgG и IgM на 2, 4 и 6 сутки эксперимента. Применение при экспериментальном язвенном колите ректальных свечей с 5-аминосалициловой кислотой приводит к снижению концентрации IgM и IgG на 2, 4 и 6 сутки.

2. Применение при экспериментальном язвенном колите витамина D3 в составе ректальных суппозиториев оригинального состава приводит к снижению концентрации IgG и IgM в сыворотке на 4 и 6 сутки, сопоставимому с таковым после применения стандартной терапии с 5-аминосалициловой кислотой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мальцев С. В., Рылова Н. В. Витамин D и иммунитет // Практическая медицина. 2015. № 1(86). С. 114–120. [Maltsev S. V., Rylova N. V. Vitamin D and immunity//Applied medicine. 2015. No. 1(86). P/-114–120.]
2. Осиков М. В., Симонян Е. В., Бакеева А. Е., Бойко М. С., Бивалькевич В. А. Экспериментальное моделирование и перспективные направления коррекции гомеостаза при воспалительных заболеваниях // Аспирантский вестник Поволжья. 2018. № . 1–2. С. 153–160. DOI:10.17816/2075-

- 2354.2018.18.153-160 [Osikov M. V., Simonyan E. V., Bakeeva A. E., Quickly M. S., Bivalkevich V. A. Experimental modeling and the perspective directions of correction of a homeostasis at inflammatory diseases//the Postgraduate bulletin of the Volga region. 2018. No. 1–2. P.–153–160. DOI:10.17816/2075-2354.2018.18.153-160
3. Li Jie Lai, Jun Shen, Zhi Hua Ran. Natural killer T cells and ulcerative colitis. Cellular Immunology. Vol. 335. 2019. P. 1–5. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.08.010.
4. Toshifumi HIBI. Pathogenesis and Treatment of Ulcerative Colitis//JMAJ. 2003. Vol. 46. № 6. P. 257–262.
5. R. Ungaro MD, S. Mehandru MD, J.-F. Colombel MD. Ulcerative colitis. The Lancet. 2017. Vol. 389. P. 1756–1770. DOI:10.1016/S0140–6736(16)32126–2
6. Снопов С. А. Механизм действия витамина D на иммунную систему // Медицинская иммунология. 2014. Т16. № 6. С 499–530. [Snopov S. A. Mechanism of effect of Dna vitamin immune system//Medical immunology. 2014. Т16. No. 6. P.– 499–530.]

STUDY OF THE CONTENT OF IgG AND IgM LEVEL IN EXPERIMENTAL ULCER AND IN THE CONDITIONS OF RECTAL SUPPOSITORIES WITH VITAMIN D3

© 2019 E. V. Simonyan, M. S. Boyko*

*E-mail: ri-tochka9@list.ru

South Ural State Medical University, Ministry of health of the Russian Federation,
Chelyabinsk, Russia

Received: 26.05.2019. Accepted: 28.06.2019

Basic therapy of ulcerative colitis (UC) includes 5-aminosalicylic acid derivatives (5-ASA), glucocorticoids, and other drugs that have side effects that limit their use, therefore, the search for and justification of the use of new drugs for pharmacotherapy is necessary. The aim of the work is to study the effects of rectal suppositories with vitamin D3 on serum IgG and IgM concentrations in experimental UC. Work performed on 70 Wistar rats. UC was modeled in two stages: 1 – skin sensitization of an animal with a 3% oxazolone solution, 2 – rectal administration of 3% oxazolone. An aqueous solution of vitamin D3 in the composition of rectal suppositories of the original composition based on polyethylene glycol was used every 12 hours; in the comparison group, rectal suppositories with 5-ASA were used in the same way. The serum concentration of IgG and IgM was determined by ELISA using specific test systems on days 2, 4 and 6 of the experiment. The work revealed a statistically significant decrease in the concentration of immunoglobulins in terms of the use of rectal suppositories with vitamin D3 on days 4 and 6 of experimental ulcerative colitis.

Key words: ulcerative colitis, vitamin D3, IgG, IgM, rectal suppositories

Authors:

Simonyan E. V., Ph.D., Head of the Department of Chemistry and Pharmacy, Pharmaceutical Faculty, South-Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia;

Boyko M. S., ✉ Assistant of the Department of Pathophysiology, South-Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia.

454092 Chelyabinsk, ul. Vorovskogo, d. 64, South-Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. Phone: +79822880718, **E-mail:** ri-tochka9@list.ru