

## **Провоспалительная активность октреотида в терапии деструктивных форм панкреатита**

Изучено влияние октреотида, синтетического аналога соматостатина, на продукцию фактора некроза опухоли-альфа в культуре клеток цельной крови больных деструктивным панкреатитом. Выявлено, что октреотид дозозависимо подавляет продукцию данного цитокина по силе антицитокинового эффекта не уступая пентоксифиллину. При этом комбинация октреотида и пентоксифиллина усиливает антицитокиновые свойства обоих препаратов.

Ключевые слова: панкреатит, цитокины, октреотид, пентоксифиллин, овомин.

We have investigated the influence of octreotide, as synthetic analogue somatostatin, on the tumor necrosis factor- $\alpha$  production in the cell blood culture at the patients with destructive pancreatitis. It is revealed that the dose dependent octreotide suppresses the production of the cytokine as having a higher anticytokine efficiency it would not yield to pentoxifylline. In addition octreotide and pentoxifyllin combination strengthens preparations.

Key words: acute pancreatitis, tumor necrosis factor-alpha, octreotide, pentoxifyllin, ovomin.

Введение. Развитие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) является характерной чертой деструктивного панкреатита. Важная роль в развитии ССВО отводится гиперпродукции провоспалительных цитокинов, в частности фактору некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ). ФНО- $\alpha$  является ключевым медиатором в последующем запуске целого каскада провоспалительных реакций, способствующих повреждению как самой паренхимы поджелудочной железы, так и возникновению экстрапанкреатических повреждений (3,4). Отсюда вытекает важность подавления продукции данного цитокина в максимально ранние сроки от начала заболевания. Ранее сообщалось о способности соматостатина и октреотида влиять на продукцию провоспалительных цитокинов, при этом описано как стимулирующее (5), так и подавляющее влияние (6) этих гормонов на продукцию этих цитокинов.

В связи с этим мы поставили цель изучить влияние октреотида на продукцию ФНО- $\alpha$  в культуре клеток цельной крови больных острым панкреатитом *in vitro* и сравнить его с антицитокиновой активностью пентоксифиллина, свойства которого подавлять продукцию некоторых цитокинов описаны в литературе (2).

Материал и методы.

Для исследования были отобраны следующие препараты и их сочетания: октреотид, пентоксифиллин, овомин, сочетание октреотида и пентоксифиллина.

В зависимости от дозы использованных препаратов выполнено V серий экспериментов (см. табл. 1).

Таблица 1. Дозы использованных препаратов в различных сериях эксперимента.

Серия	Виды препаратов и дозы			
	1. октреотид	2. пентоксифиллин	3. сочетание октреотида (1) и пентоксифиллина (2)	4. овомин
I серия	20 нг	20 мкг	20 нг+20 мкг	20 Ед
II серия	10 нг	10 мкг	10 нг+10 мкг	10 Ед
III серия	5 нг	5 мкг	5 нг+5 мкг	5 Ед
IV серия	2,5 нг	2,5 мкг	2,5 нг+2,5 мкг	2,5 Ед
V серия	40 нг	-	-	-

Примечание: V серия выполнена только с октреотидом. Дозы препаратов приведены в расчете на мл культуральной среды.

Доза препарата рассчитывалась с учетом среднего значения объема циркулирующей крови (5000мл) и терапевтической дозы препарата в расчете на мл крови. В последующем различные дозы препаратов вводились в культуру клеток цельной крови 5 больных острым панкреатитом. Мужчин было 2, женщин- 3, средний возраст 37,6±4,9 лет (25-53 года)), прогностический балл тяжести больных при поступлении составил в среднем 4,0±0,7 (по классификации Краснорогова В.Б. и соавт. (1)).

Цельная кровь больных инкубировалась в течение 48 часов при температуре 37°C в полной культуральной среде RPMI-1640 (Serva, США). Культивирование проводили в конечном объеме 200 мкл в увлажненной атмосфере, содержащей 5% углекислого газа.

В качестве контроля использовали интактные клетки крови больных (спонтанная продукция цитокинов) и стимулированные добавлением липополисахарида (ЛПС; *Escherichia coli* O111:B4 - 5мкг/мл)- 2 серии для крови каждого больного.

Измерения уровня ФНО- $\alpha$  проведены с помощью тест-системы твердофазного иммуноферментного анализа, амплифицированной авидин-биотиновым взаимодействием с модификациями, позволяющими достоверно детектировать концентрацию ФНО- $\alpha$  - 8-20 пг/мл (НИИ гематологии и переливания крови, Минск, Республика Беларусь).

Статистическая обработка данных проводилась методами вариационной статистики, непараметрическими методами оценки достоверности (определение критерия Манн-Уитни) с использованием программы "Biostat".

Результаты. В отличие от аналогичных работ (5,7), проведенных на клетках крови здоровых доноров, наше исследование проведено с использованием культуры клеток цельной крови больных острым панкреатитом, взятой до начала лечения, что позволило на наш взгляд приблизить эксперимент к ситуации, имеющей место в клинических условиях.

Учитывая первично асептический характер панкреонекроза и, следовательно, отсутствие липополисахаридной стимуляции в начальных этапах возникновения и развития синдрома системного воспалительного ответа при данном заболевании, в качестве отрицательного контроля нами использован уровень спонтанной продукции ФНО- $\alpha$ . В качестве контроля сравнения использовали систему искусственной активации бактериальным липополисахаридом.

Сравнение концентрации ФНО- $\alpha$  при спонтанной его продукции клетками цельной крови и при стимулированной бактериальным липополисахаридом показало, что стимулированная продукция этого цитокина оказалась достоверно выше ( $p < 0,05$ ) и составила 1261±132,2 пг/мл, в то время как спонтанная была 926,8±22,93 пг/мл.

Изучение динамики ФНО- $\alpha$  при использовании всех протестированных нами препаратов показало, что имело место дозозависимое подавление его продукции (см. таблицу 2).

Таблица 2. Концентрация ФНО- $\alpha$  в супернатантах культуры клеток цельной крови при добавлении различных концентраций октреотида, пентоксифиллина и их комбинации.

Препарат	Концентрация ФНО- $\alpha$ (пг/мл) / серия опыта				
	I	II	III	IV	V
1. октреотид	98 $\pm$ 19,28 **	215,6 $\pm$ 24,74 **	427 $\pm$ 64,7 **	514,4 $\pm$ 63,92 **	44,2 $\pm$ 3,35 **
2. пентоксифиллин	76,08 $\pm$ 13,0 **	251,7 $\pm$ 54,29 **	498,9 $\pm$ 111,2 **	660,6 $\pm$ 63,95 **	.
3. комбинация 1+2	33,93 $\pm$ 6,127 **	72,17 $\pm$ 6,68 **	180,6 $\pm$ 37,61 **	424,2 $\pm$ 97,62 **	.

Примечание:

1) \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  - достоверность при сравнении со спонтанной продукцией ФНО- $\alpha$ ;

2) используются те же обозначения концентрации препарата, как и в таблице 1.

Максимальный эффект отмечен нами в I серии опыта для всех препаратов (для октреотида в V серии), а также при использовании комбинации октреотида и пентоксифиллина. При сравнении эффективности подавления ФНО- $\alpha$  октреотидом и пентоксифиллином мы не отметили преимуществ какого-то из препаратов. В случае использования октреотида значения ФНО- $\alpha$  в супернатантах были ниже по сравнению с использованием пентоксифиллина, хотя достоверность различий ( $p < 0,05$ ) отмечена нами только во II серии. В I серии, наоборот концентрация ФНО- $\alpha$  в супернатанте была достоверно ниже в случае использования пентоксифиллина. В случае использования комбинации октреотида и пентоксифиллина мы получили дозозависимый антицитокиновый эффект, как и при использовании каждого из препаратов в отдельности. Кроме того, мы отметили суммацию антицитокинового эффекта, что проявилось достоверным ( $p < 0,05$ ) по сравнению с изолированным применением каждого из препаратов снижением концентрации ФНО- $\alpha$  в I-III сериях опыта. Значения ФНО- $\alpha$  в IV серии также были ниже, но достоверная разница при этом отсутствовала.

При сравнении же комбинации октреотида и пентоксифиллина с изолированным использованием каждого из препаратов абсолютные значения ФНО- $\alpha$  оказались достоверно ниже при использовании комбинации в I-III сериях эксперимента. То есть эффект подавления продукции ФНО- $\alpha$  проявлялся даже при более низких дозах октреотида и пентоксифиллина. Таким образом, при снижении терапевтической дозы октреотида и пентоксифиллина в случае использования их комбинации в клинических условиях можно ожидать эффект аналогичный монотерапии каждым из препаратов в отдельности. Последнее возможно приведет к удешевлению стоимости лечения, что немаловажно, если учесть высокую цену октреотида.

Как уже было отмечено выше влияние овомина на концентрацию ФНО- $\alpha$  в супернатантах характеризовалось дозозависимым подавлением его продукции, наиболее выраженным в I серии опыта, при этом зависимость между дозой и

уровнем ФНО- $\alpha$  носила обратно пропорциональный характер, то есть с увеличением дозы происходило снижение концентрации ФНО- $\alpha$  (см. рис. 1).

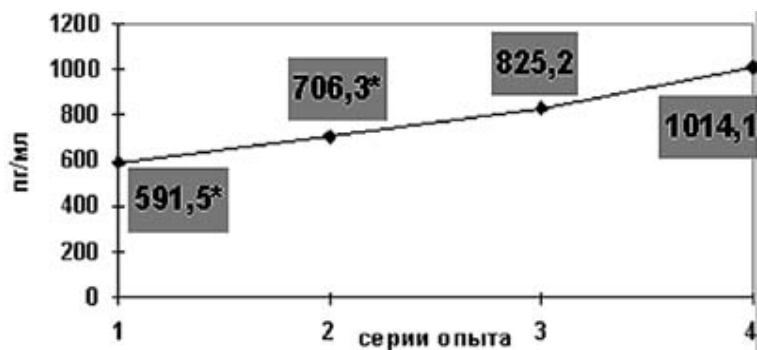


Рисунок 1. Концентрации ФНО- $\alpha$  в супернатантах культуры клеток цельной крови при добавлении различных доз овомина.

Примечание: \* $p < 0,05$  - достоверность при сравнении со спонтанной продукцией (по критерию Манна-Уитни).

Результаты, полученные в IV серии, как это видно из графика, свидетельствуют об отсутствии влияния овомина в такой дозе на продукцию ФНО- $\alpha$ . Сравнение антицитокиновой активности овомина с другими протестированными препаратами и их комбинациями показало, что овомин уступает им в этом свойстве, о чем говорят достоверно более низкие по сравнению с овомином значения ФНО- $\alpha$  при использовании октреотида, пентоксифиллина и их комбинаций во всех сериях опыта.

Таким образом, характер влияния октреотида на продукцию ФНО- $\alpha$  носил дозозависимый характер 2,5-40 нг/мл, при этом увеличение концентрации препарата сопровождалось более эффективным подавлением его продукции. Комбинация октреотида с пентоксифиллином приводила к усилению антицитокиновой активности каждого из препаратов.

Полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют об антицитокиновых свойствах октреотида и позволяют предположить, что будучи назначенным в раннем периоде развития заболевания, он способен вмешиваться в развитие ССВО, предотвращая, таким образом, развитие отдаленных органных повреждений.

Выводы:

1. Октреотид способен подавлять продукцию ФНО- $\alpha$  в культуре клеток цельной крови больных острым панкреатитом, по силе антицитокинового эффекта не уступая пентоксифиллину.
2. Комбинация октреотида и пентоксифиллина усиливает антицитокиновые свойства обоих препаратов.
3. Антицитокиновые свойства овомина, октреотида, пентоксифиллина и их комбинации проявляются *in vitro* в дозах меньших, чем обычные терапевтические.
4. Гиперпродукция ФНО- $\alpha$  может быть уменьшена при назначении октреотида, пентоксифиллина или их комбинации, а также овомина в максимально ранние сроки от начала заболевания.

Литература:

1. Вашетко Р.В., Толстой А.Д., Курьгин А.А. и соавт. Острый панкреатит и травмы поджелудочной железы. – СПб: Питер, 2000.- 309 с.
2. Balibrea J.L., Arias-Diaz J., Garcia C., Vora E. Effect of pentoxifylline and somatostatin on tumour necrosis factor production by human pulmonary macrophages // *Circ. Shock.*- 1994.- Vol. 43, № 2.- P. 51-56.
3. Chowder Y., Cahalon L., Lahav M. et al. Somatostatin through its specific receptor inhibits spontaneous and TNF- $\alpha$  and bacteria induced IL-8 and IL-1 $\beta$  secretion from intestinal epithelial cells // *J. Immunol.*- 2000.- Vol. 165, №6.- P. 2955-2961.
4. Dofferhoff A.S., Bom V.J.J., de Vries-Hospers H.G. et al. Patterns of cytokines, plasma endotoxin, plasminogen activator inhibitor, and acute-phase proteins during the treatment of severe sepsis in humans // *Crit. Care Med.*- 1992.- Vol. 20.- P. 185-192.
5. Komorowski J., Stepien H. Somatostatin (SRIF) stimulates the release of interleukin-6 (IL-6) from human peripheral blood monocytes (PBM) in vitro // *Neuropeptides.*- 1995.- Vol. 29, № 2.- P. 77-81.
6. Norman J., Fink G., Messina J. et al. Timing of tumor necrosis factor antagonism is critical in determining outcome in murine lethal acute pancreatitis // *Surgery.*- 1996.- Vol. 120, №3.- P. 515-521.
7. Peluso G., Petillo O., Melone M.A.B. et al. Modulation of cytokine production in activated human monocytes by somatostatin // *Neuropeptides.*- 1996.- Vol. 30, № 5.- P. 443-451.