УДК 616.381-002: 616]:616.15

Ф.В. Гринчук

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

ДИНАМІКА ВМІСТУ ДЕЯКИХ ЦИТОКІНІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПЕРИТОНІТУ ТА ЙОГО РОЗВИТКУ НА ТЛІ ПОЄДНАНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Ключові слова: *перитоніт, поєднана патологія, цитокіни.*

Резюме. *В роботі подані результати дослідження динаміки вмісту фактора некрозу пухлин α, інтерлейкінів - 2, 6, 10 у плазмі крові щурів за умов гострого перитоніту. Встановлено, що поєднання останнього з цукровим діабетом та ураженням печінки і нирок має спільні закономірності - швидкий, вже через 12 год, розвиток дисбалансу про- та протизапальних цитокінів з подальшим виникненням прогресуючої імунної дисфункції.*

Вступ

Універсальними медіаторами клітинної відповіді на запалення час вважаються цитокіни (ЦТК), які відіграють значну роль у виникненні та розвитку різних захворювань [3,9], в тому числі перитоніту [2,5]. Разом з тим, особливості динаміки ЦТК при поєднанні останнього з патологією інших органів та систем залишаються не розкритими.

Мета дослідження

Дослідити особливості динаміки вмісту цитокінів у плазмі крові щурів за умов розвитку перитоніту у тварин з моделями супутньої патології (СП).

Матеріал і методи

Матеріал досліджень становили 75 білих статевозрілих нелінійних щурів, масою від 180 до 200 г. Перитоніт моделювали за розробленою методикою, шляхом черезстравохідної перфорації шлунку спеціальним пристроєм [7]. Як СП ми обрали цукровий діабет (ЦД), який моделювали шляхом підшкірного уведення 1,6% розчину алоксану на дистильованій воді в дозі 16 мг на 100 г маси [1]. Крім того, враховуючи значну розповсюдженість патології печінки та нирок, ми моделювали їх ураження шляхом підшкірного уведення 5% розчину нітриту натрію на дистильованій воді в дозі 0,5 мг на 100 г маси [6].

Тварини розділені на три групи. Першу склали 20 щурів із перитонітом, контролем для яких були 5 інтактних тварин. Другу групу склали 20 щурів із перитонітом на фоні токсичного ураження печінки й нирок, контролем для яких було 5 тварин, яким уводився нітрит натрію. Третю групу склали 20 тварин із перитонітом на фоні ЦД, контролем для яких були 5 тварин із моделлю діабету.

При виконанні роботи дотримувались основних вимог Ванкуверської конвенції (1979, 1994) про біомедичні експерименти. Виведення тварин з експерименту проводили шляхом декапітації. Всі маніпуляції виконувалися під хлороформним наркозом.

Визначали вміст фактора некрозу пухлин α (ФНП), інтерлейкінів (ІЛ) - 2, 6, 10. Дослідження проводили наборами реактивів фірми "Biosource" (Бельгия).

Статистичну обробку даних проводили із диференційованим застосуванням порівняльних критеріїв, залежно від нормальності розподілу виборок, яку визначали за критерієм Шапіро-Вілкі [8].

Обговорення результатів дослідження

Встановлено, що у тварин з ураженням нирок і печінки вміст ФНПα та ІЛ-10 (таблиця) був дещо більшим, ніж у інтактних. У тварин з моделями ЦД рівень ФНПα, ІЛ-2 та 6 значно вищий, а ІЛ-10 - нижчим, ніж у решті груп.

Виявлене у тварин 2-ї групи зростання секреції ФНПα, вказує на зростання функціональної активності захисних систем у відповідь на пошкодження печінки і нирок [9]. Паралельне збільшення

Таблиця

Вихідні рівні цитокінів (пкг/мл) у плазмі крові експериментальних тварин

№ п/п	Групи / Показники	1 група		2 група		3 група	
		M	m	M	m	M	m
1.	Фактор некрозу пухлин – α	34,256	14,444	52,578	27,150	203,770*, 1-3**	65,602
2.	Інтерлейкін – 2	146,002	42,0446	134,500 **	39,980	299,772**, 1-3*	39,224
3.	Інтерлейкін – 6	33,461	2,667	32,014	2,796	55,643 *, 1-3*	9,527
4.	Інтерлейкін – 10	26,166	6,920	54,500	10,276	8,333 **, 1-3**	2,092

Примітка. * - коефіцієнт вірогідності P між прилеглими та вказаними групами < 0,05, ** - <0,01 (наведені тільки статистично значимі відмінності)

© *Ф.В. Гринчук, 2007*

синтезу ІЛ-10 свідчить про активацію регуляторних механізмів [2,5].

Виражена перевага рівня прозапальних ЦТК та зниження вмісту протизапального ІЛ-10 у тварин 3-ї групи засвідчує наявність диспропорції цитокінового статусу. Деякі дослідники [3] вважають зростання синтезу означених ЦТК одним із факторів патогенезу ЦД. На нашу думку, такі процеси є складовою передумов змін перебігу перитоніту, які відмічаються не лише при ЦД, а й при інших видах патології, для якої властиві подібні порушення цитокінового статусу [3,9].

Через 6 год з часу моделювання перитоніту у 1-й групі вірогідно збільшився вміст у плазмі всіх ЦТК (рис. 1). У 2-й групі найменше зріс рівень ІЛ-2 (рис. 2), а найбільше - ІЛ - 6 (рис. 3) та ІЛ-10 (рис. 4). У 3-й групі рівень ФНПα збільшувався несуттєво, а решти ЦТК - високовірогідно.

Збільшення вмісту ЦТК є закономірним процесом в умовах перитоніту, що розвивається [2,11, 12]. Разом з тим, найменший приріст вмісту ІЛ-2 у тварин 2-ї групи, поряд із вираженим збільшенням кількості ІЛ-10, вказує на зміни функціональної активності регуляторних лімфоцитів [2]. Невиражене зростання кількості ФНПα могло зумовлюватися пригніченням його синтезу під впливом ІЛ-6 [2,9].

Відзначимо, що у обох групах тварин з моделями СП рівень ФНПα був суттєво нижчим, ніж у 1-й групі. Одним із ефектів ФНПα є активація депо нейтрофільних лейкоцитів [2]. Тому, на нашу думку, відносно низький його вміст може бути однією з причин пригнічення клітинних факторів резистентності, що часто спостерігається в клінічних умовах у хворих на гострий перитоніт із СП, в тому числі у пацієнтів із ЦД, патологією печінки й нирок [4,10].

Через 12 год з часу моделювання перитоніту в 1-й групі вірогідно знижувався вміст ФНПα, ІЛ-6 та 10, а кількість ІЛ-2 залишалася на попере-

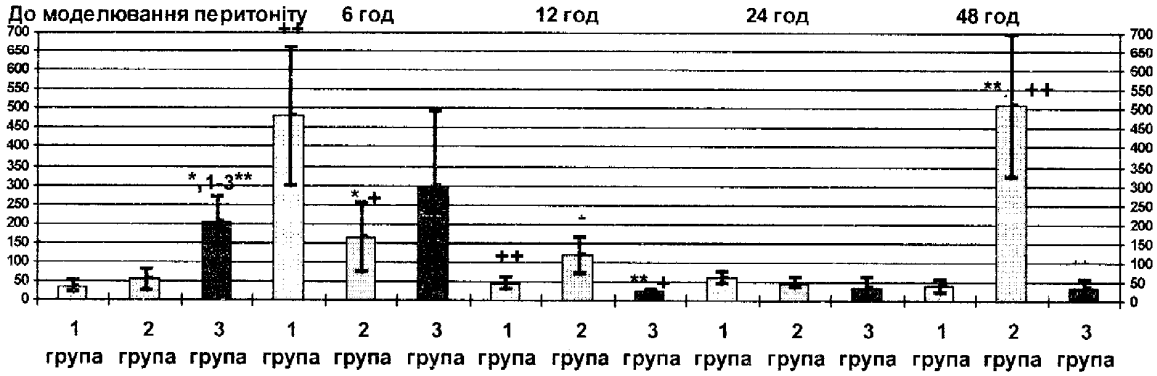

Рис. 1. Динаміка рівня фактора некрозу пухлин - α (пкг/мл) у плазмі крові експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту

Примітка. *- коефіцієнт вірогідності Р між прилеглими групами 0,05, **- < 0,01; +- коефіцієнт вірогідності між прилеглими термінами спостереження 0,05, ++ - < 0,01 (наведені тільки статистично значимі відмінності)

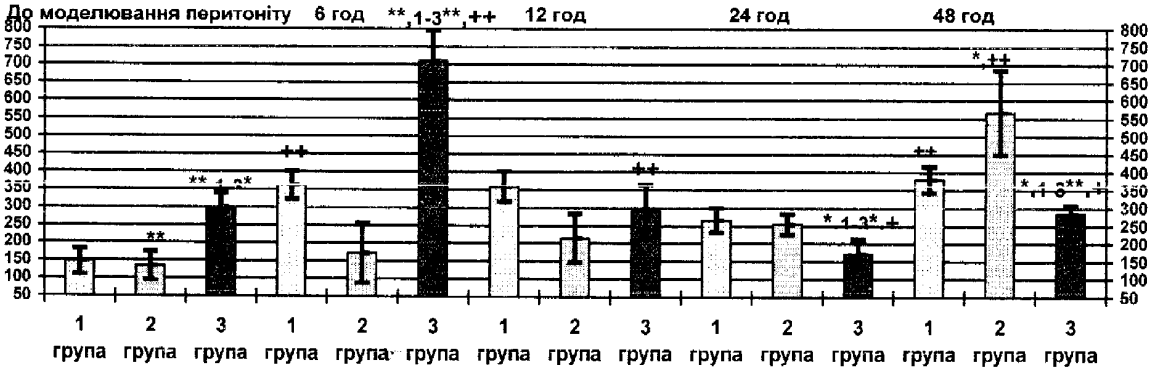

Рис. 2. Динаміка рівня інтерлейкіну - 2 (пкг/мл) у плазмі крові експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту

Примітка. *- коефіцієнт вірогідності Р між прилеглими групами 0,05, **- < 0,01; +- коефіцієнт вірогідності між прилеглими термінами спостереження 0,05, ++ - < 0,01 (наведені тільки статистично значимі відмінності)

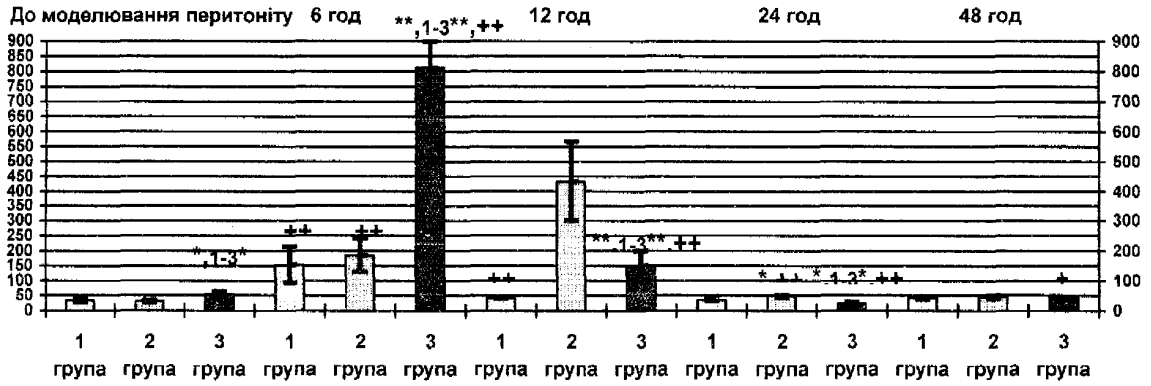

Рис. 3. Динаміка рівня інтерлейкіну - 6 (пкг/мл) у плазмі крові експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту

Примітка. *- коефіцієнт вірогідності Р між прилеглими групами 0,05, **- < 0,01; +- коефіцієнт вірогідності між прилеглими термінами спостереження 0,05, ++ - < 0,01 (наведені тільки статистично значимі відмінності)

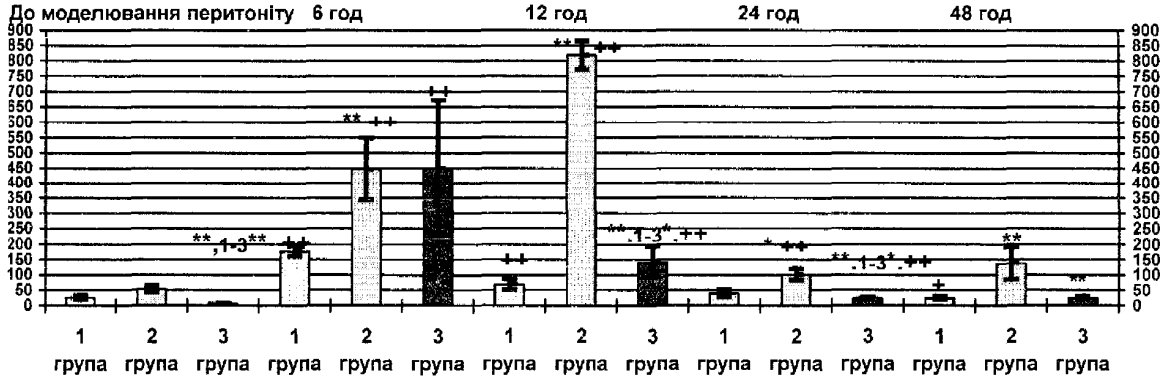

Рис. 4. Динаміка рівня інтерлейкіну - 10 (пкг/мл) у плазмі крові експериментальних тварин у процесі розвитку перитоніту

Примітка. *- коефіцієнт вірогідності Р між прилеглими групами 0,05, **- < 0,01; +- коефіцієнт вірогідності між прилеглими термінами спостереження 0,05, ++ - < 0,01 (наведені тільки статистично значимі відмінності)

ньому рівні. У тварин 2-ї групи помірно знижувався рівень ФНПα, дещо зростав вміст ІЛ-2, вірогідно збільшувалася кількість ІЛ-6 та ІЛ-10. У 3-й групі відмічалося різке зменшення рівнів усіх ЦТК.

Зміни показників у тварин 1-ї групи можна трактувати як прояв імунної відповіді [2].

Динаміку показників у тварин 2-ї групи можна розцінити, як ознаки недостатності клітинного компоненту захисних систем. Свідченням цьому є випереджаюче зростання рівня ІЛ-6, який відноситься до гемопоетичних ростових факторів [9]. Звертає на себе увагу, що лише у цій групі зростав рівень ІЛ-10. При цьому високі параметри його вмісту не відповідали таким прозапальних ЦТК. Це можна трактувати як прояв імунної дисфункції [2].

Стрімке зниження параметрів досліджуваних показників у тварин 3-ї групи, є свідченням глибоких змін імунітету та одним із проявів вторинного імунодефіциту [2]. Слід додати, що в даній групі, як і у 2-й, рівень ІЛ-10 не відповідав вмісту інших ЦТК, що є додатковим проявом відповідних порушень імунної системи [2,9,11].

Через 24 год з часу моделювання перитоніту у 1-й групі тварин дещо зростав рівень ФІПα на фоні помірного зниження кількості інших ЦТК. У тварин 2-ї групи помірно знижувався вміст ФНПα, значно зменшувалась кількість ІЛ-6 та 10. Параметри ІЛ-2 продовжували зростати. У тварин 3-ї групи рівень ФНПα практично не змінився, а вміст решти ЦТК продовжував знижуватись.

Зміни досліджуваних показників у 1-й групі свідчать, з одного боку, про при-гнічення функціональної здатності продуцентів ІЛ. З іншого боку, зростання секреції ФІПα, продуцентами якого є лімфоцити, нейтрофіли, макрофаги та ін. [2], вказують на їх зростаючу функціональну активність. Характерно, що ефекти ФІПα, в більшості, компенсують такі інших досліджених ЦТК [9,12], відповідно, зростання його рівня могло нівелювати зниження їх синтезу.

Наростання рівня ІЛ-2 на фоні зниження секреції решти досліджених ЦТК у тварин 2-ї групи є, на перший погляд, свідченням адаптивної реакції імунної системи [2]. Разом з тим, зважаючи на видозміни мікробних індукторів, що мають місце впродовж розвитку перитоніту [4], такі процеси можна вважати неадекватними.

Триваюче зниження параметрів досліджуваних показників у тварин 3-ї групи є свідченням прогресуючих порушень функціональної здатності захисних систем [2]. Слід відмітити, що зниження рівня ФНПα мало місце і у 2-й групі. Варто зауважити, що ФНПα є стимулятором синтезу прокоагулянтних факторів та колагену [2,12], сприяє розростанню тромбу на поверхні ендотелію та ін. Відповідно, пригнічення синтезу цього ЦТК у тварин з моделями СП є одним з важливих факторів, що сприяють поширенню перитоніту.

Через 48 год з часу його моделювання у 1-й групі рівні ФНПа та ІЛ-10 знижувались. Вміст ІЛ-6 майже не змінився, натомість кількість ІЛ-2 значно зросла. У 2-й групі стрімко збільшувався вміст ФНПα та ІЛ-2, в той час як кількість ІЛ-6 практично не змінилась, а вміст ІЛ-10 невірогідно зріс. У 3-й групі вірогідно наро-стала кількість ІЛ-2 та 6.

Викладене свідчить, що попри відмінності кількісних характеристик, динаміка ЦТК у всіх групах мала спільні закономірності. Останні можна розцінити як прояв подальшого прогресування імунних порушень та дисбалансу регуляторних факторів у тварин з моделями СП та розвитку таких процесів у тварин 1-ї групи.

Динаміка показників у тварин 2-ї групи є прикладом розвитку "цитокінового шквалу", що спричиняє до розвитку дисбалансу між медіаторами запалення та механізмами їх контролю [2]. Основним промотором таких патологічних процесів вважається ФНПα [9,12]. Одначе відома можливість їх ініціації шляхом синергістичної та аддитивної взаємодії ІЛ-2 та 6 [2,9,11], що спостерігалось у тварин із моделями ЦД.

Висновки

1. Зміни цитокінового статусу у тварин з моделями супутньої патології свідчать про активацію захисних систем при ураженні печінки й нирок та про наявність дисбалансу цитокінової системи з перевагою рівня прозапальних цитокінів у тварин з цукровим діабетом.

2. Ініціація перитоніту супроводжується різким зростанням синтезу цитокінів, при цьому у тварин з моделями супутньої патології виявляються спільні особливості, проявом яких є низький рівень фактору некрозу пухлин α.

3. Зміни досліджуваних показників в процесі прогресування перитоніту у інтактних тварин вказують на послідовну активацію різних ланок імунної системи.

4. У тварин з поєднаними патологічними станами через 12 год виявляються порушення функціонального стану захисних систем, що проявляється дисбалансом про- та протизапальних цитокінів та подальшим виникненням імунної дисфункції.

Перспективи подальших досліджень

Зважаючи на важливу регуляторну роль цитокінів, перспективними є дослідження їх вмісту в клінічних умовах у хворих на поєднані патологічні стани.

Література. 1. *Баранов В.Г., Соколоверова И.М., Гаспарян Э.Г. и др.* Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии.- Л.: Наука, 1983.- 240 с. 2. *Гаин Ю.М., Леонович С.И., Завада Н.В. и др.* Иммунный статус при перитоните и пути его патогенетической коррекции.- Мн: ООО "Юнипресс", 2001.- 256 с. 3. Клебанова Е.М. Окислительный стресс, функциональная активность β-клеток и содержание фактора некроза опухоли α у больных сахарным диабетом 2-го типа // Клин. мед.- 2006.- №8.- С.40-43. 4. *Кулєшов С.В., Ляпіс М.О., Герасимчук П.О.* Стандарти лікувальної тактики при гострій абдомінальній хірургічній патології на тлі цукрового діабету // Шпитальна хірургія.- 2001.- №3 (додаток до номера).- С.114-116. 5. *Минаев С.В.* Значение цитокинов в патогенезе острой хирургической патологии брюшной полости // Цитокины и воспаление.- 2004.- Т.3. №2.- С.41 - 46. 6. Пат. 31164А, Україна, МКИ А61В10/00, А61З1/515. Спосіб моделювання гострої ниркової недостатності / *Федорук О.С.*- Опубл. 16.04.2001.- Бюл. № 3.- 2 с. 7. Пат. 4766, Україна, МКИ А61В17/00, А61М27/00. Спосіб моделювання гострого перитоніту / *Гринчук Ф.В., Полянський І.Ю.*- Опубл. 15.02.2005.- Бюл. № 2.- 3 с. 8. *Сергиенко В.К., Боднарева И.Б.* Математическая статистика в клинических исследованиях.- М.: ГЭОТАР - МЕД, 2001.- 256 с. 9. *Симбирцев А.С.* Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление.- 2004.- Т 3, №2.- С.16 - 22. 10. *Arias Miranda I.M., Garcia Fanjul R., Lopez de Mesa C., Gonzalez Garcia M.E.* Abdominal pain and fever in a patient on anticoagulants // An. Med. Interna.- 2005.- Vol.22, №12.- P.602-603. 11. *Herwig R., Glodny B., Kuhle C.* Early identification of peritonitis by peritoneal cytokine measurement // Dis. Colon Rectum.- 2002.- Vol.45. №4.- P.514-521. 12. *Kermarrec N., Selloum S., Plantefeve G. et al.* Regulation of peritoneal and systemic neutrophil-derived tumor necrosis factor-alpha release in patients with severe peritonitis: role of tumor necrosis factor-alpha converting enzyme cleavage // Crit. Care Med. 2005.- Vol.3, №6.- P.1359-1364.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПРИ УСЛОВИЯХ ПЕРИТОНИТА И ЕГО РАЗВИТИЯ НА ФОНЕ СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИИ

Ф.В. Гринчук

Резюме. В работе представлены результаты исследования динамики содержания фактора некроза опухолей α, интерлейкинов - 2, 6, 10 в плазме крови крыс в условиях острого перитонита. Установлено, что сочетание последнего с сахарным диабетом и поражением печени и почек имеет общие закономерности - быстрое, уже через 12 час., развитие дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов с последующим возникновением прогрессирующей иммунной дисфункции.

Ключевые слова. Перитонит, сочетанная патология, цитокины.

DYNAMICS OF THE CONTENT OF SOME CYTOKINES IN RAT BLOOD PLASMA UNDER CONDITIONS OF PERITONITIS AND ITS DEVELOPMENT AGAINST A BACKGROUND OF COMBINED PATHOLOGY

F.V. Grynchuk

Abstract. The results of investigating dynamics of the content of tumor necrosis factor α, interleukins - 2, 6, and 10 in the rat blood plasma under conditions of acute peri-tonitis have been presented in the paper. It has been stated that a combination of the latter with diabetes mellitus and hepatic and renal damage has been stated to have a pattern consistent of a rapid disbalance pro- and anti-inflammatory cytokines with the subsequent progressive immune dysfunction, already in 12 hours

Keywords: peritonitis, combined pathology, cytokines.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2007.- Vol.6, №2.-P.23-27.
Надійшла до редакції 25.05.2007

Рецензент - доц. О.Б. Боднар