



Л. В. Леонтьева,
А. В. Сидоряк,
Л. И. Кривченко

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии
НАМН Украины», г. Харьков

© Л. В. Леонтьева, А. В. Сидоряк,
Л. И. Кривченко

КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЕ И НА ФОНЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Резюме. Проведено исследование динамики ИЛ-6, ФНО- α и средних молекул у крыс с холодной травмой на фоне острой и хронической алкоголизации. Показано, что отморожения приводит к резкому увеличению содержания изучаемых показателей уже через 6 часов после нанесения травмы и достигает пика на 1—3-и сутки. Отморожения на фоне острого алкоголизма вызывают несколько большую интоксикацию, а хроническая алкоголизация — наиболее выраженное повышение концентрации исследуемых провоспалительных факторов.

Ключевые слова: *отморожения, алкоголизация, ИЛ-6, ФНО- α , средние молекулы.*

Вступление

Усиленный интерес исследователей к системе цитокинов связан с ключевой ролью этих молекул в развитии патологии. Установленным фактом является изменение содержания цитокинов при любых видах альтерации. В основном они ответственны за развитие местных защитных реакций в тканях с участием клеток крови, эндотелия, эпителия, соединительной ткани. На местном уровне цитокины регулируют все последовательные этапы развития воспаления и адекватного ответа на повреждающий агент [1, 2, 4, 6]. Существует много работ, посвященных исследованию цитокинов при механических и термических травмах, но значительно меньше — при криотравмах.

На динамику цитокинов, помимо травм, влияют также и другие факторы. Так, в последнее время установлено, что острая и хроническая алкогольные интоксикации вызывают нарушения в образовании интерлейкинов. Показано, что *in vitro* при однократном воздействии этанол угнетает образование моноцитами воспалительных цитокинов — ИЛ-1; ИЛ-6 и ФНО- α . Однако в результате длительного приема алкоголя цитотоксические Т-лимфоциты и натуральные киллеры активируются и усиливают выработку цитокинов. Таким образом, изменение профиля цитокинов зависит от характера употребления алкоголя (однократно или многократно), наличия и тяжести алкогольной болезни печени, интенсивности свободно-радикального окисления [3, 4]. Иммуные нарушения у алкоголиков не могут не оказывать влияния на восстановительные процессы в поврежденной соединительной ткани.

С цитокинами тесно связано увеличение уровня эндотоксинов, обуславливающих токсическую реакцию организма, которую в последние годы рассматривают как проявление действия так называемых средних молекул (СМ).

Учитывая, что отморожение очень часто наступает на фоне алкогольной интоксикации, вы-

зывает интерес исследование содержания цитокинов и средних молекул при сочетании этих двух факторов.

Целью данной работы явилось изучение динамики ИЛ-6, ФНО- α и средних молекул у крыс с холодной травмой на фоне острой и хронической алкоголизации [5].

Материалы и методы

Опыты проведены на 120 белых беспородных крысах-самцах массой 200—220 г. Подопытных животных разделили на четыре группы: интактную, служившую контролем и три экспериментальные. В первой экспериментальной группе (группа I) было воспроизведено отморожение без алкогольной интоксикации. Во второй экспериментальной группе (группа II) отморожение воспроизводили на фоне хронической алкогольной интоксикации. В третьей экспериментальной группе (группа III) отморожение воспроизводили на фоне острой алкогольной интоксикации. Все процедуры с животными, а также выведение животных из эксперимента путем декапитации проводили под анестезией с использованием диэтилового эфира в соответствии с национальными «Общими этическими принципами опытов на животных» (Украина, 2001).

Отморожение моделировали у предварительно наркотизированных тиопенталом натрия животных контактным способом, с помощью стальной гирьки, предварительно охлажденной жидким азотом до температуры -196°C , с площадью контактной поверхности 615 мм^2 (4—5% поверхности тела); время экспозиции — 90 с. В результате воздействия формировалось отморожение III степени [6, 7].

Хроническую алкогольную интоксикацию вызывали путем 30-дневного (один раз в день) внутрижелудочного введения 40° этанола в дозе 12 мг/кг. Острую алкогольную интоксикацию вызывали однократным внутрижелудочным введением 40° этанола в дозе 12 мг/кг массы тела (2 мл).

**Результаты исследования и их обсуждение**

В результате проведенного исследования были получены данные по содержанию провоспалительных факторов ИЛ-6 и ФНО- α при острой и хронической алкогольной интоксикации на фоне локальной холодовой травмы (табл. 2—4). Как видно из данных табл. 2, концентрация ИЛ-6 и ФНО- α в дореактивном периоде в группе с острой алкогольной интоксикацией увеличиваются в среднем, соответственно, на 300 и 397,8% по сравнению с интактной группой.

Максимального увеличения цитокины достигают на третьи сутки. Для ИЛ-6 это увеличение составляет 570,3%, для ФНО- α — 540,2%, а к концу эксперимента изучаемые показатели превышают уровень интакта в среднем, соответственно, на 62,1 и 51,4%.

Из данных табл. 3 следует, что отморожение на фоне острой алкогольной интоксикации приводит к увеличению содержания ИЛ-6 и ФНО- α через 6 часов в среднем на 565 и 484,9%; на третьи

сутки — на 580,2 и 570,1% и на 21-е сутки — на 14,8 и 45,8% по сравнению с интактными животными.

Отморожение на фоне хронической интоксикации вызывает увеличение ИЛ-6 и ФНО- α через 6 часов, соответственно, в среднем на 837,1 и 674,8%; на третьи сутки — на 902,8 и 764,2%; на 21-е сутки — на 251,2 и 105% по сравнению с животными, не получавшими травм (табл. 4).

Сравнение концентрации ИЛ-6 и ФНО- α в случаях наличия и отсутствия алкогольной интоксикации показало, что содержание исследуемых соединений через 6 часов после нанесения травмы при воздействии алкоголя возрастает в среднем на 66,2% (хроническая интоксикация) и 17,2% (острая интоксикация). В последующие сроки эти показатели практически не отличались от показателей крыс с «чистой» криотравмой.

Содержание ИЛ-6 и ФНО- α у животных, получивших криотравму на фоне хронической алкогольной интоксикации, уже в дореактивном периоде выше, чем у крыс при острой алкогольной

Таблица 1

Содержание цитокинов при локальном отморожении у крыс (n = 6)

Показатель	Интакт	6 часов	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
ИЛ-6 пгр/мл	4,5 \pm 0,33	17,95 \pm 0,95*	29,95 \pm 1,40*	27,57 \pm 1,34*	21,85 \pm 0,58*	7,23 \pm 0,36*
ФНО- α пгр/мл	1,15 \pm 0,07	5,82 \pm 0,20*	7,46 \pm 0,24*	7,02 \pm 0,22*	6,30 \pm 0,22*	1,77 \pm 0,13*

Примечание: * — $p < 0,05$ по отношению к интактному контролю.

Таблица 2

Содержание цитокинов при локальном отморожении на фоне острой алкогольной интоксикации у крыс (n = 6)

Показатель	Интакт	6 часов	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
ИЛ-6 пгр/мл	4,5 \pm 0,33	29,86 \pm 0,97*	30,49 \pm 0,78*	23,98 \pm 1,01*	16,75 \pm 0,95*	5,10 \pm 0,31*
ФНО- α пгр/мл	1,15 \pm 0,07	6,82 \pm 0,22*	7,81 \pm 0,26*	6,65 \pm 0,18*	5,67 \pm 0,21*	1,70 \pm 0,12*

Примечания: * — $p < 0,05$ по отношению к интактному контролю; ● — $p < 0,05$ по отношению к группе с длительной интоксикацией.

Таблица 3

Содержание цитокинов при локальном отморожении на фоне хронической алкогольной интоксикации у крыс (n = 6)

Показатель	Интакт	6 часов	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
ИЛ-6 пгр/мл	4,5 \pm 0,33	42,03 \pm 1,15* [^]	44,89 \pm 1,39* [^]	32,65 \pm 1,11* [^]	27,13 \pm 0,92* [^]	15,77 \pm 0,64* [^]
ФНО- α пгр/мл	1,15 \pm 0,07	9,01 \pm 0,24* [^]	10,10 \pm 0,26* [^]	7,48 \pm 0,20*	6,63 \pm 0,19*	2,41 \pm 0,15* [^]

Примечания: * — $p < 0,05$ по отношению к интактному контролю; ^ — $p < 0,05$ по отношению к животным с естественным течением отморожения; ● — $p < 0,05$ по отношению к группе с длительной интоксикацией.

Таблица 4

Динамика изменения концентрации средних молекул в крови крыс с локальным отморожением на фоне однократного и длительного введения этанола

Условия опыта	Содержание средних молекул в плазме, в усл. ед.					
	6 часов	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
Интактные животные	0,210 \pm 0,02	0,214 \pm 0,02	0,220 \pm 0,02	0,254 \pm 0,02	0,236 \pm 0,02	0,232 \pm 0,01
Животные с холодовой травмой (I группа)	0,688 \pm 0,05*	0,945 \pm 0,08*	0,740 \pm 0,07*	0,300 \pm 0,03	0,220 \pm 0,02	0,218 \pm 0,02
Холодовая травма и однократное введение этанола (II группа)	0,760 \pm 0,07*	1,25 \pm 0,09* [^]	0,820 \pm 0,07*	0,280 \pm 0,03	0,240 \pm 0,02	0,232 \pm 0,02
Холодовая травма и многократное введение этанола (III группа)	0,810 \pm 0,07* [●]	1,20 \pm 0,1* [●]	0,910 \pm 0,08* [●]	0,850 \pm 0,08* [^]	0,700 \pm 0,05* [^]	0,840 \pm 0,07*

Примечания: * — $p < 0,05$ по отношению к интактному контролю; ^ — $p < 0,05$ по отношению к животным с естественным течением отморожения; ● — $p < 0,05$ по отношению к группе с длительной интоксикацией.



интоксикации (в среднем, соответственно, на 272 и 189,9%). Высокий уровень этих цитокинов сохраняется во все сроки наблюдения, и к концу эксперимента они превышают значения интактных животных в среднем, соответственно, на 251,2 и 105%, что свидетельствует об усилении патогенного воздействия сочетания холода и алкоголя, приводящего к более тяжелому нарушению метаболического равновесия.

Об этом свидетельствуют и изменения в содержании средних молекул (табл. 1). У животных, подвергшихся обморожению, содержание СМ через 6 часов, в первые и третьи сутки увеличиваются в среднем, соответственно, на 227,6, 341,5 и 236,3% по сравнению с интактными животными. На 7-е, 14-е и 21-е сутки они практически соответствуют значениям контроля. У животных с острой алкогольной интоксикацией содержание СМ в те же сроки, что указаны выше, увеличивается, в среднем, соответственно, на 262, 437,3 и 272% по сравнению с интактными крысами. На 7-е и 14-е сутки содержание их существенно снижалось практически до уровня интактных животных. У крыс с хронической алкоголизацией увеличение содержания средних молекул отмечается во все изученные сроки и составляет в среднем 180—200%.

У крыс с длительной алкоголизацией, подвергшихся обморожению, содержание СМ во все

изученные сроки увеличивается в среднем, соответственно, на 44,0, 100, 37,8, 19,7 и 25,3% по сравнению с хронически алкоголизированными крысами.

Изучение результатов этого исследования показало, что отморожение приводит к увеличению содержания средних молекул уже начиная с 6 часов (что согласуется и с клиническими наблюдениями) и достигает пика по истечении первых суток. На 3-и сутки оно снижается, но остается еще высоким, к норме возвращается на 7—14-е сутки.

Отморожение на фоне острого алкоголизма вызывает несколько большую интоксикацию. Максимальное увеличение содержания СМ отмечается после первых суток.

На 7-е и 21-е сутки этот показатель так же, как и у животных, подвергшихся только одному отморожению, снижается практически до физиологической нормы. Такое действие алкоголя можно объяснить тем, что он вызывает многообразные метаболические и функциональные сдвиги.

Таким образом, результаты экспериментальных исследований показали, что воспалительный процесс, вызванный криодеструкцией, протекает более выражено, длительно и с более глубокими метаболическими нарушениями у крыс, подвергшихся хронической алкоголизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кнорринг Г.Ю. Цитокиновая сеть как мишень системной энзимотерапии / Г.Ю. Кнорринг // Цитокины и воспаление. — 2005. — Т. 4, №4. — С. 45—49.
2. Ковалева В.Н. Биологические эффекты интерлейкина-1 / В.Н. Ковалева // Врачебная практика. — 2001. — №2. — С. 94—98.
3. Коптяева Р.Г. Динамика провоспалительных цитокинов при экспериментальной острой холодовой травме / Р.Г. Коптяева // Цитокины и воспаление. — 2010. — Т. 9, №4. — С. 90.
4. Кухар І.Д. Вплив локальної кріодеструкції шкіри щурів на вміст кортикостерону і серотоніну в крові / І.Д. Кухар // Вісник наукових досліджень. — 2000. — №1. — С. 86—87.
5. Сибиряк С.В. Цитокины и микросомальное окисление / С.В. Сибиряк, С.А. Сергеева // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1998. — Т. 61, №5. — С. 75—80.
6. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме / К.Г. Шаповалов, Н.Е. Томина, М.И. Михайличенко [и др.] // Медицинская иммунология. — 2008. — Т. 10, №1. — С. 89—92.
7. Травма: воспаление и иммунитет / Н.М. Калинина, А.Е. Сосюкин, Д.А. Воложанин [и др.] // Цитокины и воспаление. — 2005. — №1. — С. 23—29.



КОНЦЕНТРАЦІЯ ЦИТОКІНІВ
У СИРОВАТЦІ КРОВІ
ЩУРІВ ПРИ ЛОКАЛЬНІЙ
ХОЛОДОВІЙ ТРАВМІ
Й НА ТЛІ АЛКОГОЛЬНОЇ
ІНТОКСИКАЦІЇ

*Л. В. Леонтьєва,
А. В. Сидоряк, Л. І. Кривченко*

THE CONCENTRATION
OF CYTOKINES IN THE
SERUM OF RATS AT A
LOCAL COLD INJURY AND
ON A BACKGROUND OF
ALCOHOLIC INTOXICATION

*L. V. Leontyeva, A. V. Sidoryak,
L. I. Krivchenko*

Резюме. Проведено дослідження динаміки ІЛ-6, ФНП- α та середніх молекул у щурів із холодовою травмою на тлі гострої і хронічної алкоголізації. Показано, що відмороження призводить до різкого збільшення вмісту досліджуваних показників уже через 6 годин після нанесення травми і досягає піку на 1—3-ю добу. Відмороження на тлі гострого алкоголізму спричиняє дещо більшу інтоксикацію, а хронічна алкоголізація — найбільш виражене підвищення концентрації досліджуваних прозапальних факторів.

Ключові слова: відмороження, алкоголізація, ІЛ-6, ФНП- α , середні молекули.

Summary. The dynamics of IL-6, TNF- α and average molecules in rats with cold injury on a background of acute and chronic alcoholisation were studied. It was shown that the cold injury leads to a sharp increase in the content of the studied molecules within 6 hours after injury and peaks at 1—3 days. Frostbite on the background of acute alcohol intoxication is a bit more pronounced, and chronic alcoholism gives the most pronounced increase in concentration of studied inflammatory factors.

Key words: frostbite, alcoholism, IL-6, TNF- α , the average molecule.