

ВПЛИВ ПОЛІТРАВМИ НА ДИНАМІКУ РАНЬОГО АПОПТОЗУ ТКАНИННИХ ЛІМФОЦИТІВ

В умовах політравми різко збільшується інтенсивність раннього апоптозу тканинних лімфоцитів легень, серця і печінки впродовж 28 діб посттравматичного періоду. Загальною закономірністю є зростання інтенсивності раннього апоптозу протягом 7 діб посттравматичного періоду зі зниженням через 14 діб, наступним повторним, проте меншим, підвищенням через 21 добу і зниженням через 28 діб.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: політравма, ранній апоптоз, лімфоцити, легені, серце, печінка.

ВСТУП. Важливим досягненням останніх років є доведення провідної ролі в патогенезі травматичної хвороби генералізації запальної реакції під впливом прозапальних цитокінів з формуванням синдрому поліорганної недостатності [4]. Окремі автори вважають, що одним із провідних механізмів переходу системної відповіді організму на запалення до поліорганної недостатності є програмована клітинна загибель – апоптоз, який розвивається в органах, що піддаються запальному впливу [8]. Однак дотепер немає переконливих даних щодо ролі апоптозу у формуванні поліорганної недостатності.

Дослідження динаміки прозапальних цитокінів як індукторів апоптозу в постраждалих з тяжкою політравмою показало, що у ранній посттравматичний період спостерігається висока концентрація проапоптичних цитокінів, яка до 7–10 діб знижується з поступовим збільшенням антиапоптичних цитокінів [2]. Разом із тим, вважають, що цитокіни є тільки ранніми сигнальними молекулами, які належать до пускових механізмів подальших патологічних процесів, і інтенсивність їх утворення не завжди відповідає тяжкості перебігу політравми [4], що спонукає до вивчення безпосередніх проявів апоптозу паренхіматозних клітин.

Одними з найчутливіших клітин організму до проапоптичного впливу цитокінів є лімфоцити. Посилення апоптозу лімфоцитів зумовлює згасання інтенсивності запальної реакції та розвиток імуносупресії у посттравматичний період [9]. Враховуючи те, що лімфоцити постійно циркулюють між кров'ю і тканинами, можна припустити, що апоптоз тканинних лімфоцитів відображає сукупність впливу проза-

пальних цитокінів на рівні органа, що дозволяє оцінити й глибину апоптозу паренхіматозних клітин.

Метою даної роботи було з'ясувати інтенсивність раннього апоптозу лімфоцитів, отриманих із тканини легень, серця і печінки в динаміці політравми.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експериментах використано 109 нелінійних білих щурів, яких утримували на стандартному раціоні віварію. 20 тварин склали контрольну групу. В дослідних групах було по 8–14 особин.

Політравму моделювали за методикою Д. В. Козак [6] в умовах тіопентало-натрієвого знеболювання (40 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини). Щурів, які залишились живими, виводили з експерименту на 2 години, 1, 3, 7, 14, 21 і 28 доби методом тотального кровопускання із серця в умовах знеболювання. Для виділення лімфоцитів органів промиті у фосфатно-сольовому буфері легені, серце та печінку гомогенізували в подрібнювачі тканин, гомогенат центрифугували 20 хв при 8000 об./хв. З надосадової рідини виділяли фракції лімфоцитів на градієнті щільності фікол-тріумбразу 1,077. Для оцінки реалізації апоптозу лімфоцитів легень, серця та печінки використовували ФІТЦ-мічений анексин V з набору реагентів “ANNEXIN V FITC” (“Beckman Coulter”, Франція). Аналіз проб проводили на проточному цитометрі “Epics XL” (“Beckman Coulter”, Франція).

Для оцінки достовірності відмінностей використовували t-критерій Стьюдента та критерій Вілкоксона–Манна–Уїтні [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці, в контрольній групі істотно переважа-

Таблиця – Динаміка інтенсивності раннього апоптозу тканинних лімфоцитів легень, серця і печінки у відповідь на політравму ($M \pm m$)

| 2 год (n=6) | 1 доба (n=8) | 3 доба (n=5) | 7 доба (n=6) | 14 доба (n=6) | 21 доба (n=6) | 28 доба (n=5) |
|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Ранній апоптоз лімфоцитів легень Контроль=(0,53±0,06) мкмоль·л ⁻¹ (n=20) | | | | | | |
| 2,27±0,24 ^{***} | 4,53±0,32 ^{***} | 8,00±0,29 ^{***} | 47,27±3,59 ^{***} | 6,28±0,23 ^{***} | 20,57±1,05 ^{***} | 7,12±0,67 ^{***} |
| Ранній апоптоз лімфоцитів серця Контроль=(0,35±0,02) мкмоль·л ⁻¹ (n=20) | | | | | | |
| 6,85±0,54 ^{***} | 10,72±0,93 ^{***} | 9,41±0,32 ^{***} | 40,37±1,88 ^{***} | 7,92±0,54 ^{***} | 11,37±0,56 ^{***} | 8,96±0,95 ^{***} |
| Ранній апоптоз лімфоцитів печінки Контроль=(0,29±0,04) мкмоль·л ⁻¹ (n=20) | | | | | | |
| 9,76±1,11 ^{***} | 5,07±0,31 ^{***} | 10,56±0,59 ^{***} | 40,37±3,48 ^{***} | 11,62±0,80 ^{***} | 12,90±0,74 ^{***} | 8,62±0,79 ^{***} |

Примітка. * – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; # – $p < 0,10$).

ранній апоптоз лімфоцитів легень порівняно із серцем і печінкою (відповідно, на 51,4 і 82,8 %, $p < 0,001$).

В умовах політравми різко збільшувалася інтенсивність раннього апоптозу тканинних лімфоцитів досліджуваних органів протягом усього терміну спостереження від 2 год до 28 днів посттравматичного періоду. Загальною закономірністю було зростання інтенсивності раннього апоптозу через 7 днів після політравми зі зниженням через 14 днів, наступним повторним, проте меншим, підвищенням через 21 добу і зниженням через 28 днів.

Звертає на себе увагу той факт, що до трьох днів після політравми інтенсивність раннього апоптозу істотно переважала серед лімфоцитів серця і печінки порівняно з лімфоцитами легень. Через 3 доби після політравми ранній апоптоз лімфоцитів серця і печінки був більшим, відповідно, на 17,6 і 32,0 % ($p < 0,01$).

Через 7 днів після політравми інтенсивність раннього апоптозу ставала максимальною та істотно не відрізнялася серед лімфоцитів досліджуваних органів.

Через 14 днів інтенсивність раннього апоптозу знижувалася, причому серед лімфоцитів легень була статистично достовірно меншою, ніж серед лімфоцитів серця (на 20,7 %, $p < 0,05$) та печінки (на 46,0 %, $p < 0,001$).

Через 21 добу спостерігали повторне підвищення інтенсивності раннього апоптозу, причому серед лімфоцитів легень воно було в 1,81 раза більшим, ніж серед лімфоцитів серця, та в 1,59 раза більшим, ніж серед лімфоцитів печінки ($p < 0,001$).

Через 28 днів ранній апоптоз лімфоцитів досліджуваних органів знижувався, досягав практично однакового рівня, проте у середньому в 21,1 раза перевищував величину контролю ($p < 0,001$).

Враховуючи те, що ранній апоптоз є наслідком впливу на тканини про- і протизапальних цитокінів, можна припустити, що в умовах травми регуляторні механізми тканини

легень більше обмежують інтенсивність раннього апоптозу впродовж перших трьох днів посттравматичного періоду, ніж серця і печінки. На 7 добу настає спалах інтенсивності раннього апоптозу, який не залежить від виду тканини, що вказує на потужний проапоптозний вплив, виснаження механізмів антиапоптозного захисту й розвиток імуносупресії з можливістю виникнення септичних ускладнень. Подальше зниження інтенсивності раннього апоптозу може свідчити про розвиток компенсаторного синдрому антизапальної відповіді, на тлі якого починають переважати протизапальні цитокіни [7].

Наступний спалах раннього апоптозу тканинних лімфоцитів свідчить про фазовість посттравматичного періоду, пов'язаний із завершенням терміну формування імунологічної відповіді на пошкодження, яка супроводжується стимуляцією утворення проапоптозних цитокінів. Подібний феномен загострення через 21 добу показаний на тлі експериментальної кріотравми шкіри [1].

Достатньо високий рівень раннього апоптозу тканинних лімфоцитів на 28 добу вказує на те, що відновлення тканин після політравми ще далеко від свого завершення. Це не може не відобразитися на ступені дистрофічних процесів у тканині легень, серця і печінки в цей термін посттравматичного періоду. Даний факт вказує на подібність принципів формування не тільки шоку в людини і ссавців [3], але й пізнього посттравматичного періоду, що дозволяє експериментальні дані з великою мірою відповідності екстраполювати на людину.

ВИСНОВКИ. 1. В інтактних білих щурів переважає ранній апоптоз лімфоцитів легень порівняно із серцем і печінкою (відповідно, на 51,4 і 82,8 %, $p < 0,001$).

2. В умовах політравми різко збільшується інтенсивність раннього апоптозу тканинних лімфоцитів досліджуваних органів упродовж 28 днів посттравматичного періоду. Загальною

закономірністю є зростання інтенсивності раннього апоптозу через 7 діб після політравми зі зниженням через 14 діб, наступним повторним, проте меншим, підвищенням через 21 добу і зниженням через 28 діб.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі важливим є дослідження апоптозу паренхіматозних клітин ряду органів як єдиного шляху доведення ролі апоптозу в формуванні поліорганної недостатності на тлі політравми.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гудима А. А. Порушення морфофункціонального стану печінки в умовах локальної кріодеструкції шкіри та його корекція / А. А. Гудима, О. Б. Сван, Т. В. Дацко // Здобутки клініч. і експерим. мед. – 2007. – № 2. – С. 183–188.
2. Дзюба Д. А. Показатели активации апоптоза в течении политравмы тяжелой степени / Д. А. Дзюба, И. Р. Малыш, Л. В. Згржебловская // Укр. журн. екстремальной медицины имени Г. О. Можая. – 2008. – 9, № 1. – С. 53–58.
3. Ельский В. Н. Патофизиология, диагностика и интенсивная терапия тяжелой черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, А. М. Кардаш, Г. А. Городник; под ред. В. И. Черния. – Донецк: Новый мир, 2004. – 200 с.
4. Калинин О. Г. К патогенезу травматической болезни / О. Г. Калинин, А. О. Калинин // Проблемы военной охраны здоровья. – 2002. – С. 34–43.
5. Лакин Г. Ф. Биметрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высш. школа, 1990. – 352 с.
6. Пат. 63997 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання політравми / Козак Д. В.; заявник і патентовласник Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № u 201104110; заявл. 05.04.11; опубл. 25.10.11, Бюл. 20.
7. Bone R. C. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS / R. C. Bone // Crit. Care Med. – 1996. – 24. – P. 1125–1128.
8. Fearon D. T. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response / D. T. Fearon, R. M. Locksley // Science. – 1996. – 272. – P. 50–53.
9. Inhibition of Fas/Fas ligand signaling improves septic survival: differential effects on macrophage apoptotic and functional capacity / C. S. Chang, G. Y. Song, J. Lomas [et al.] // J. Leukoc. Biol. – 2003. – 74 (3). – P. 344–351.

Д. В. Козак, А. А. Гудыма

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ПОЛИТРАВМЫ НА ДИНАМИКУ РАННЕГО АПОПТОЗА ТКАНЕВЫХ ЛИМФОЦИТОВ

Резюме

В условиях политравмы резко увеличивается интенсивность раннего апоптоза тканевых лимфоцитов легких, сердца и печени в течение 28 суток посттравматического периода. Общей закономерностью является рост интенсивности раннего апоптоза в течение 7 суток посттравматического периода со снижением через 14 суток, последующим повторным, однако меньшим, повышением через 21 сутки и снижением через 28 суток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: политравма, ранний апоптоз, лимфоциты, легкие, сердце, печень.

D. V. Kozak, A. A. Hudyma

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF POLYTRAUMA ON DYNAMICS OF EARLY APOPTOSIS IN TISSUE LYMPHOCYTES

Summary

In case of polytrauma dramatically increases the intensity of early apoptosis in tissue lymphocytes of the lungs, heart and liver during 28 days of post-traumatic period. General pattern is the intensity of early apoptosis within 7 days of post-traumatic period with the reduction in 14 day that is following by smaller repeated increase in 21 days and decrease after 28 days.

KEY WORDS: polytrauma, early apoptosis, lymphocytes, lungs, heart, liver.

Отримано 02.08.12

Адреса для листування: Д. В. Козак, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.