

## СОСТОЯНИЕ ГЕНА РАННЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ C-FOS В СУБЪЯДРАХ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДИФИКАЦИЙ ФОТОПЕРИОДА

*О.В. Тимофей, Р.Е. Булык*

**Резюме.** Исследовано влияние модификаций нормальной фотопериодики на состояние гена ранней функциональной активности *c-fos* в нейронах субъядрах паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гипоталамуса крыс в различные промежутки суток (днем и ночью). Экспрессия продукта этого гена – белка *c-Fos* – у животных, которых содержали в нормальных условиях чередования освещения и темноты, демонстрировала довольно четкий циркадианный характер. В то же время, изменение длительности цикла свет-темнота приводит к выраженному десинхронозу. Определяющим фактором, повлиявшим на индекс интегральной плотности *c-Fos* в исследуемых структурах ПВЯ гипоталамуса крыс, были изменения концентрации белка и индекса содержания *c-Fos* в субъядрах нейронов.

**Ключевые слова:** ген *c-fos*, иммуноспецифический белок *c-Fos*, паравентрикулярное ядро гипоталамуса, постоянное освещение, световая депривация.

## CONDITION OF THE IMMEDIATE-RESPONSE GENE C-FOS IN SUBNUCLEUS OF THE HYPOTHALAMIC PARAVENTRICULAR NUCLEI OF RATS UNDER CONDITIONS OF MODIFICATIONS OF THE PHOTOCYCLE

*O.V. Timofei, R.Ye. Bulyk*

**Abstract.** The influence of modifications of normal photoperiodicity on the state of *c-fos* (gene of immediate functional response) in neurons of the subnuclei of paraventricular nuclei (PVNs) of the rats' hypothalamus was examined; samples were taken during the day and night. In animals kept under normal conditions of alternation of light and darkness, expression of the product of this gene and marker of its activation (*c-Fos* protein) demonstrated a rather clear circadian pattern. Simultaneously, a change of the light-darkness cycle results in marked desynchronization. The decisive factors that influenced the index of the integral density of *c-Fos* in the rats' hypothalamic PVN structures under study were changes of the concentration of this particular protein and the index of the *c-Fos* content in the subnuclei of the neurons.

**Key words:** *c-fos* gene, immunospecific *c-Fos* protein, hypothalamic paraventricular nuclei, permanent lighting, light deprivation.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 154-159

Надійшла до редакції 11.11.2013 року

© О.В. Тимофей, Р.С. Булик, 2013

УДК 616.37-002.2-036.12-06:616.12-008.46]:612.017

*О.І. Федів, Д.О. Гонцарюк*

## ЦИТОКИНОВИЙ СТАТУС У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПАНКРЕАТИТ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ ЗА ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** У статті наведені результати дослідження цитокінового статусу у хворих на хронічний панкреатит з ішемічною хворобою серця за хронічної серцевої недостатності. Встановлено, що у хворих за поєданого перебігу має місце гіперпродукція прозапальних цитокінів – інтерлейкіну 1β, фактору некрозу пухлин альфа

та С-реактивного протеїну, що вказує на прогресування хронічної запальної реакції в даних пацієнтів та потребує медикаментозної корекції.

**Ключові слова:** хронічний панкреатит, ішемічна хвороба серця, хронічна серцева недостатність, цитокіни.

**Вступ.** У механізмах розвитку запалення суттєва роль належить і порушенням з боку судинної стінки. Лабораторна діагностика цих порушень ґрунтується не тільки на виявленні змін маркерів дисліпідемії, інтенсивності хронічного запалення, але й на показниках ендотеліальної дисфункції, яка вважається основною ланкою

взаємозв'язку між запаленням і розвитком та прогресуванням проліферації, апоптозу.

Відомо, що як у процесах атеросклерозу, атеротромбозу, розвитку хронічної серцевої недостатності (ХСН), так і формуванні ангіогенезу (як стадії запального процесу) у тканині підшлункової залози (ПЗ) за хронічного панкреатиту

© О.І. Федів, Д.О. Гонцарюк, 2013

(ХП) відповідна роль належить не тільки С-реактивному білку (СРБ), фібриногену, фактору некрозу пухлин альфа (ФНП- $\alpha$ ), але й розчинним молекулам адгезії – sICAM-1 (soluble intercellular adhesion molecules 1 – молекули міжклітинної адгезії 1-го типу) і sVCAM-1 (soluble vascular cellular adhesion molecules 1 – молекули адгезії судинного ендотелію 1-го типу), за участі яких лейкоцити проникають у стінку судин або отримують відповідну інформацію в міжклітинному просторі.

**Мета дослідження.** Вивчити стан показників ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , адгезивних молекул VCAM, С-РБ як ланок запуску хронічної запальної реакції, та їхньої ролі в ініціації імунної відповіді на запалення у хворих за коморбідного перебігу хронічного панкреатиту із ІХС за хронічної серцевої недостатності.

**Матеріал і методи.** Для оцінки впливу ІХС за синдрому ХСН обстежено 40 (33,3 %) хворих (І група) на ХП (вік коливався від 23 до 67 років), 40 пацієнтів, віком від 48 до 69, які страждали на ІХС за синдрому хронічної СН І-ІА-Б стадії II-III функціонального класу за класифікацією NYHA (II група), та 40 (33,3 %) пацієнтів, хворих на ХП із ІХС за синдрому ХСН І-ІА-Б стадії II-III функціонального класу (III група), вік яких коливався від 52 до 76 років. Хронічний панкреатит діагностований у 47 (58,8 %) чоловіків і в 33 (41,25 %) жінок. Тривалість захворювань складала від 3 до 15 років. У контрольну групу були включені 20 практично здорових осіб від 39 до 60 років, чоловіків 12 (60 %), жінок 8 (40 %). Таким чином, стать і вік здорових були порівняні зі статтю та віком хворих, тривалістю захворювання та лікуванням на попередніх етапах.

Вміст ФНП- $\alpha$  вивчали за допомогою реагентів набору реактивів «ИФА-TNF-alpha» виробництва «Цитокін» (Санкт-Петербург) на аналізаторі «Униплан» АИФР-01. Показники С-реактивного білка встановлювали за допомогою набору фірми DAI (США) шляхом проведення твердофазного імуносорбентного аналізу згідно з інструкцією з використання діагностикума, при значеннях СРБ менше 5 мг/л констатували відсутність системної

запальної відповіді. «Гострофазовий» запальний діапазон включав значення СРБ більші за 10 мг/л. Динамічне визначення концентрації ІЛ-1 $\beta$  у сироватці крові вивчали з використанням наборів реагентів фірми «Вектор-Бест» (м. Новосибірськ, Росія) згідно з інструкцією щодо користування, які додавалися до цих наборів, шляхом проведення твердофазового імуноферментного аналізу на аналізаторі імуноферментних реакцій RT-2100С (Rayto Electronics Inc., Китай). Визначення концентрації молекул VCAM-1 у плазмі крові вивчали за допомогою набору для визначення розчинної форми VCAM-1, виробництва Bender MedSystems (Австрія). Статистична обробка отриманих даних виконувалася на персональному комп'ютері «ViewSonic» із використанням стандартних пакетів програм Microsoft Excel та за допомогою комп'ютерних програм „BioStat”, Statistica for Windows версії 6.0 (Stat Soft inc., США). Враховувалися: середня арифметична величина (M), її похибка (m), критерій Стьюдента (t), можливість (p) із забезпеченням вірогідності не менше ніж 95 %. При непараметричному розподілі використовували для множинного порівняння – Н-критерій Краскела-Уоліса, для парного – Т-критерій Вілкоксона (у випадку залежних груп).

Дослідження проводились із дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000) і Наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Карта досліджень та формуляр інформованої згоди пацієнта схвалені комісією з питань біомедичної етики Буковинського державного медичного університету МОЗ України (м. Чернівці).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Під час дослідження цитокінового профілю в групах пацієнтів, які знаходилися під спостереженням, були отримані наступні результати (табл.).

Аналіз показників рівня прозапального цитокіну ІЛ-1 $\beta$  показав, що в групі хворих на ХП, а

Таблиця

**Вміст інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ), фактора некрозу пухлин альфа (TNF- $\alpha$ ), молекули адгезії судинного ендотелію (VCAM) у сироватці крові в обстежених осіб, (M $\pm$ m)**

Показники	Практично здорові (n=20)	Хворі на ХП (n=40)	Хворі на ІХС із ХСН, (n=40)	Хворі на ХП із супутньою ІХС за ХСН (n=40)
СРБ (мг/мл)	1,13 $\pm$ 0,35	2,37 $\pm$ 0,11*	3,96 $\pm$ 0,43*	7,31 $\pm$ 0,37*/**/**
ФНП- $\alpha$ пг/мл)	4,12 $\pm$ 0,17	5,86 $\pm$ 0,14*	5,63 $\pm$ 0,41*	6,83 $\pm$ 0,28*/**
ІЛ-1 $\beta$ (пг/мл)	8,63 $\pm$ 0,54	24,11 $\pm$ 1,82*	23,41 $\pm$ 1,65*	31,57 $\pm$ 1,05*/**/**
VCAM-1 (нг/мл)	368,3 $\pm$ 20,21	791,18 $\pm$ 27,68*	1195,1 $\pm$ 20,41*	1220,83 $\pm$ 39,46*/**

Примітка. \* – вірогідність відмінності (p<0,05) порівняно з показниками в практично здорових осіб; \*\* – вірогідність відмінності (p<0,05) порівняно з показниками у хворих на ХП; \*\*\* – вірогідність відмінності (p<0,05) порівняно з показниками у хворих на ІХС

також у хворих на ІХС його вміст зростає відносно показників у практично здорових осіб у 2,8 та 2,7 рази відповідно ( $p < 0,05$ ). ІЛ-1 $\beta$  один із перших включається в реакцію відповіді організму на пошкодження, значною мірою на місцевому рівні, активуючи Т- і В-лімфоцити, ініціюючи синтез ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ , простагландинів, тому підвищення показників при хронічному панкреатиті можна вважати як локальною реакцією на рівні клітин підшлункової залози [1], так і системною. [6]. У літературі є дані про те, що підвищення показників ІЛ-1 $\beta$  у крові впливає на порушення коронарного кровотоку з ішемією міокарда.

У III групі підвищення показників було значним та перевищувало показники групи ПЗО в 3,7 рази, та достовірно відрізнялися від таких порівняно з особами, що страждали ХП та ІХС, можливо, завдяки паралельно прогресуючим запальним реакціям судинної стінки за атеросклерозу і атеротромбозу [3]. Таке може зумовлюватися його впливом на функцію ендотелію і систему згортання крові, здатністю індукувати синтез таких прозапальних цитокінів, як ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6, та експресію адгезивних молекул, стимулюючи прокоагулянтну активність і впливаючи на метаболізм ліпідів [2], підтримуючи або активуючи перебіг хронічної запальної реакції, апоптоз, фіброзування паренхіми ПЗ, спричинюючи апоптоз міокарда [5] і впливаючи на виникнення кардіоваскулярних ризиків і ускладнень.

Результати аналізу СРБ засвідчують тенденцію до його підвищення у хворих на хронічний панкреатит і хворих на ХП із ІХС за ХСН порівняно з показниками практично здорових осіб, їх можна вважати як за такі, що вказують на вираженість інтоксикаційного синдрому, якщо розглядати з точки зору субклінічного варіанта. Тобто, показники СРБ у хворих на хронічний панкреатит залежно від вираженості клінічної симптоматики обох захворювань характеризувалися значними розмахами, частіш за все, можливо, зумовленими взаємодією різноманітних рецепторів на плазматичній мембрані лімфоцитів, різноманітними взаємодіями цитокінів, які визначають стадії запального процесу, регулюючи роллю генів СРБ [11] і, без сумніву, потребують глибокого клінічного аналізу [10, 12].

У пацієнтів II групи рівень СРБ коливався від 0 до 12 мг/л, середній рівень –  $3,96 \pm 0,43$  мг/л, у контрольній групі середній рівень складав  $1,13 \pm 0,35$  мг/л, що відповідає даним літератури. При цьому у всіх пацієнтів були відсутні ознаки вираженого клінічного запалення. За наявності синдрому хронічної серцевої недостатності середній рівень СРБ складав  $7,31 \pm 0,37$  мг/мл.

Отже, результати дослідження дають можливість вважати, що показники СРБ у групі хворих на хронічний панкреатит за супутньої ІХС із хронічною серцевою недостатністю, достовірно підвищуючись, можуть бути використаними як критерії кардіоваскулярного ризику в даній групі осіб. Тим більше, що незалежні експерти вважа-

ють, що даний тест може бути використаним у всіх практично здорових дорослих пацієнтів із метою виділення групи ризику для проведення профілактичного лікування ускладнень при ІХС, у тому числі за серцевої недостатності [8].

В основі ремоделювання міокарда лежить комплекс молекулярних і клітинних порушень, пусковим моментом яких є активація прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$ ) з подальшим залученням металопротеїназ і формуванням інтерстиціального фіброзу в серці. При цьому прогресує порушення скоротливої здатності, ремоделювання лівого шлуночка, деградація фібрилярного колагену і гіпертрофія кардіоміоцитів. За умов хронічного панкреатиту з поєднанням із ІХС вміст ФНП- $\alpha$  значно підвищується залежно від функціонального класу стенокардії [9].

Ми вивчали залежність показників вмісту ФНП- $\alpha$  від поєднання ХП із ІХС, та за синдрому хронічної СН. Показники концентрації ФНП- $\alpha$  у хворих на хронічний панкреатит були достовірно підвищені відносно показників практично здорових осіб (в 1,42 рази,  $p < 0,05$ ), що можна розглядати як латентний перебіг персистувальної хронічної запальної реакції у цих осіб, але вона носить хвилеподібну форму. У пацієнтів II групи спостерігалася аналогічна картина з показником ФНП- $\alpha$ , а саме, зростання в 1,39 рази, що на 4,1 % менше, порівнюючи з I групою ( $p > 0,05$ ). При поєднанні ХП із ІХС за синдрому хронічної СН активність ФНП- $\alpha$  зросла в 1,66 ( $p < 0,05$ ), 1,17 ( $p < 0,05$ ) та 1,21 ( $p > 0,05$ ) рази відповідно до показників ПЗО, I та II клінічних груп. За даними Зикова К.А. (2011) [4], виражена імунзапальна реакція в пацієнтів за ІХС залежить від клінічного перебігу і форми ІХС, а довготривале підвищення ФНП- $\alpha$ , яке чергується з періодами зниження, засвідчують про хвилеподібний перебіг атеросклерозу. Характер таких змін вказує, що синдром хронічної СН призводить до нестабільності атерогенного запалення, що клінічно може проявлятися у виникненні кардіоваскулярних ускладнень і летальності [14], тому вони є прогностично небезпечними у даній групі осіб і такими, що обтяжують перебіг захворювань.

В обстежених хворих із тривалістю ХП більшу за 10 років за коморбідності з ІХС спостерігалася тенденція до зменшення досліджуваного показника порівняно з особами з меншою тривалістю патологічного процесу ( $p < 0,05$ ). Ці зміни певною мірою мають саногенетичний характер у початковій фазі запалення, а відсутність підвищення рівня протизапальних цитокінів у цих пацієнтів при прогресуванні ХП із супутньою ІХС, у тому числі за хронічної СН, є прогностично несприятливою ознакою для життя і засвідчують недостатність компенсаторних можливостей імунної системи на тлі латентного перебігу генералізованої хронічної запальної реакції, яка може носити виснажливий характер [8, 13].

Аналіз результатів показав достовірні відмінності вмісту sVCAM-1 хворих порівняно з

показниками контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Так, вміст sVCAM-1 у контрольній групі становив  $368,3 \pm 20,21$  нг/мл, у пацієнтів I та II груп спостерігали підвищення вмісту sVCAM-1 у 2,1 та 3,2 раза ( $p < 0,05$ ) відповідно. Наявність ХСН у хворих на ХП з ІХС сприяло зростанню показника sVCAM-1 у середньому в 3,3 раза ( $p < 0,05$ ).

### Висновок

У хворих на хронічний панкреатит з ішемічною хворобою серця за хронічної серцевої недостатності спостерігаються виражена адгезивна дисфункція ендотелію та висока активність запального процесу, на що вказує активність прозапальних цитокінів та С-реактивного протеїну.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчити вплив медикаментозної корекції на основні патогенетичні ланки розвитку та прогресування хронічної запальної реакції у хворих за коморбідного перебігу хронічного панкреатиту з ішемічною хворобою серця за хронічної серцевої недостатності.

### Література

1. Буеверов А.О. Медиаторы воспаления и поражение поджелудочной железы / А.О. Буеверов // Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 1999. – № 4. – С. 15-18.
2. Волков В.И. Провоспалительные цитокины и растворимая молекула межклеточной адгезии при ишемической болезни сердца / В.И. Волков, С.А. Серик // Кардиология. – 2002. – № 42 (9). – С. 12-16.
3. Закирова Н.Э. Иммуновоспалительные реакции при ишемической болезни сердца / Н.Э. Закирова, Н.Х. Хафизов, И.М. Карамова [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2007. – № 2. – С. 16-19.
4. Зыков К.А. Динамика воспалительного процесса у больных с коронарным синдромом и стабильной сте-

нокардией. Сообщение II. Биохимические, иммунологические и клинические аспекты / К.А. Зыков, Э.Ю. Нуралиев // Кардиол. вестник. – 2011. – Т. 17 (XVIII), № 1. – С. 16-22.

5. Кендзерська Т.Б. Возможности диагностики, прогнозирования перебігу, контролю за ефективністю медикаментозної корекції хронічного панкреатиту у осіб похилого віку за станом систем протеолізу, фібринолізу, перекисного окиснення білків та ліпідів / Т.Б. Кендзерська // Гастроентерологія. Міжвідомчий збірник. – Дніпропетровськ, 2001. – Вип. 32. – С. 312-317.
6. Ребров А.П. Роль воспалительных и инфекционных факторов в развитии атеросклероза / А.П. Ребров, И.В. Воскобой // Терапевт. арх. – 2004. – № 76 (1). – С. 78-82.
7. Ревтович М.Ю. Хронический панкреатит: некоторые аспекты проблемы / М.Ю. Ревтович, С.И. Леонович // Мед. ж. – 2006. – № 34. – С. 45-49.
8. Терещенко С.Н. Диастолическая сердечная недостаточность: разрешимы ли трудности диагностики и лечения? / С.Н. Терещенко, И.В. Жиров // Терапевт. арх. – 2009. – № 11. – С. 73-76.
9. Христич Т. Н. Хронический панкреатит: нерешенные проблемы / Т.Н. Христич, В.П. Пишак, Т.Б. Кендзерская. – Черновцы, 2006. – 280 с.
10. de Torres J.P. C-reactive protein levels and survival in patients with moderate to very severe COPD / J.P. de Torres // Chest. – 2008. – Vol. 133. – P. 1336-1343.
11. Genetic variation, C-reactive protein levels, and incidence of diabetes / A. Dehghan, I. Kardys, M. de Maat [et al.] // Diabetes. – 2007. – Vol. 56, № 3. – P. 872-878.
12. Forsmark C.E. The early diagnosis of chronic pancreatitis / C.E. Forsmark // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2008. – Vol. 6, № 12. – P. 1291-1293.
13. Molero Richard X. Chronic pancreatitis / X. Molero Richard // Gastroenterol. Hepatol. – 2008. – Vol. 31, Suppl. 4. – P. 76-82.
14. Warne J.P. Tumour necrosis factor- $\alpha$  a key regulator of adipose tissue mass / J.P. Warne // J. of Endocrinology. – 2003. – Vol. 177. – P. 351-355.

## ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*О.І. Федів, Д.О. Гонцарюк*

**Резюме.** В статье приведены результаты исследования цитокинового статуса у больных хроническим панкреатитом с ишемической болезнью сердца при хронической сердечной недостаточности. У больных с сочетанным течением заболевания имеет место гиперпродукция провоспалительных цитокинов – интерлейкина  $1\beta$ , фактора некроза опухоли альфа и С-реактивного протеина, что свидетельствует о прогрессировании хронической воспалительной реакции у данных пациентов и требует медикаментозной коррекции.

**Ключевые слова:** хронический панкреатит, ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, цитокины.

## CYTOKINE STATUS IN PATIENTS SUFFERING FROM CHRONIC PANCREATITIS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AND CHRONIC HEART FAILURE

*O.I. Fediv, D.O. Hontsariuk*

**Abstract.** The article presents the results of cytokine status in patients with chronic pancreatitis with ischemic heart disease and chronic heart failure. It has been established that patients with combined clinical course have hyperproduction of proinflammatory cytokines – IL  $1\beta$ , tumor necrosis factor alpha and C-reactive protein, which indicates the progression of chronic inflammatory response in these patients and requires medication adjustment.

**Key words:** chronic pancreatitis, coronary heart disease, chronic heart failure, cytokines.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. О.І. Волошин

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 159-162