

## ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ – В експерименті на щурах із моделюваною черепно-мозковою травмою (ЧМТ) та стрептозототин-індукованим цукровим діабетом проведено дослідження цитокінового статусу. Результати дослідження свідчать про дисбаланс в імунному статусі після перенесеної черепно-мозкової травми та цукрового діабету. Моделювання травми на тлі стрептозототинного діабету призводить до посилення дезорганізації системи імунореактивності за рівнями інтерлейкінів-1 $\beta$ , -2, -4, -10 і TNF- $\alpha$  порівняно з тваринами, яким було нанесено ЧМТ без супутнього цукрового діабету.

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА – В эксперименте на крысах с моделированной черепно-мозговой травмой (ЧМТ) и стрептозототининдуцированным сахарным диабетом проведено исследование цитокінового статуса. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о дисбалансе в иммунном статусе после перенесенной черепно-мозговой травмы и сахарного диабета. Моделирование травмы на фоне стрептозототинного диабета приводит к усилению дезорганизации системы иммунореактивности по уровням интерлейкинов -1 $\beta$ , -2, -4, -10 и TNF- $\alpha$  по сравнению с животными, которым была нанесена ЧМТ без сопутствующего сахарного диабета.

PECULIARITIES OF CYTOKINE STATUS AT EXPERIMENTAL CRANIOCEREBRAL INJURY ON THE BACKGROUND OF DIABETES MELLITUS – In the experiment on rats with simulated cranio-cerebral injury (CCI) and streptozotocin-induced diabetes mellitus cytokine status investigation was performed. Results of the study indicate an imbalance in the immune status after undergoing cranio-cerebral injury and diabetes. Modelling of injury on the background of streptozotocin-induced diabetes leads to increased disorganization of immunoreactivity in levels of interleukin-1 $\beta$ , -2, -4, -10 and TNF- $\alpha$  compared with animals that had been inflicted CCI without concomitant diabetes mellitus.

**Ключові слова:** черепно-мозкова травма, цукровий діабет, інтерлейкіни, TNF- $\alpha$ .

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, сахарный диабет, интерлейкины, TNF- $\alpha$ .

**Key words:** cranio-cerebral injury, diabetes mellitus, interleukins, TNF- $\alpha$ .

**ВСТУП** Травматичне ураження головного мозку викликає певну послідовність патофізіологічних клітинних реакцій, які запускаються в момент травми, але максимально проявляються у різні часові періоди. Найбільш ранньою є запальна відповідь. Цитокіни є найважливішими медіаторами запальної відповіді організму, потужними імунорегуляторними, про-, антизапальними й імносупресорними агентами. Вже через 24 год після травми спостерігається максимальна інфільтрація ділянки травми поліморфноядерними лейкоцитами, через 24–48 год – пік міграції макрофагів, через 48 год – натуральних кілерів, хелперів і супресорів. Лейкоцити у вогнищі травми виділяють чисельні прямі цитотоксичні фактори і медіатори запалення, що дозволяють підтримувати процес запалення та сприяють його поширенню поза вогнищем ураження. Макрофаги і мікроглія беруть участь у прогресуванні некрозу шляхом вивільнення вільних радикалів і запальних цитокінів – інтерлейкіну-1, -6, туморнекротичного фактора, чинників адгезії тромбоцитів (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , PAF відповідно) [4, 5]. Медіатори запалення мають безліч мішеней і як результат – розвиток багаторівневої запальної імунної відповіді [9, 11].

Медіаторну функцію цитокінів оцінювали у сироватці крові методом твердофазного імуоферментного аналізу на апараті “Стат Факс Плюс” та діагностичної тест-системи фірми “Вектор Бест” (Росія) згідно з інструкціями виробника.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Дослідження виконано на 100 статевозрілих безпородних щурах-самцях масою 180–220 г, яких поділено на наступні експериментальні групи: перша – інтактні тварини (контроль), друга – щури, яким моделювали черепно-мозкову травму (ЧМТ), третя – щури з експериментальним цукровим діабетом (ЦД), четверта – щури, яким моделювали ЧМТ на тлі ЦД. Тварин утримували у стандартних умовах віварію на повноцінному харчовому раціоні з вільним доступом до води. Роботу виконували відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (European convention the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes – Consul of Europe. Strasbourg, 1986) та загальних принципів експериментів на тваринах, ухвалених І національним конгресом з біоетики [2]. Цукровий діабет викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозототину (Sigma, США) в дозі 60 мг/кг [1]. Діабетиками рахували тварин з рівнем глюкози понад 14–16 ммоль/л. Закрити черепно-мозкову травму моделювали за допомогою розробленої нами методики [7]. Через 3 год, 1 добу, 5 і 14 діб після нанесеної ЧМТ тварин виводили з експерименту в умовах тіопентало-натрієвого наркозу (40 мг/кг) шляхом тотального кровопускання із серця.

Результати досліджень опрацьовували статистично із застосуванням t-критерію Стьюдента для незалежних виборок.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Ми вивчали динаміку продукції прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2) і IL-4, IL-10, що володіють протизапальними властивостями, у різні терміни: період гострої реакції на травму (3 і 24 год) та період ранніх проявів ЧМТ [3] і за умов ЧМТ у поєднанні з ЦД. Результати проведених досліджень наведено у таблиці 1.

Аналізуючи отримані результати, встановлено, що TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4 поступово збільшувались з перших годин після ЧМТ та досягали максимуму в перші доби після травми, після чого зменшувались, проте

Таблиця 1. Вміст цитокінів у крові щурів з черепно-мозковою травмою та цукровим діабетом, M±m

Показник	Контроль (n=10)	ЦД (n=10)	Група	Час після травми			
				3 год (n=10)	24 год (n=10)	5 діб (n=10)	14 діб (n=10)
TNF- $\alpha$ , фг/л	41,37±4,63	116,53±5,76***	ЧМТ	152,48±7,12 ***	186,15±8,41 ***	148,34±8,82 ***	56,52±5,37 *
			ЧМТ+ЦД	211,67±6,82 ^^^ ###	234,90±7,14 ^^ ##	242,44±6,95 ^^###	236,63±6,76 ^^###
IL-1 $\beta$ , фг/л	13,91±2,15	32,75±3,02***	ЧМТ	29,36±2,82 ***	51,63±3,25 ***	46,71±3,42 ***	22,18±2,06 *
			ЧМТ+ЦД	57,41±3,18 ^^###	70,85±3,47 ^^###	68,06±2,93 ^^###	71,31±3,25 ^^###
IL-2, фг/л	9,27±0,68	17,24±2,15**	ЧМТ	14,52±1,45 **	32,15±2,27 ***	38,54±3,07 ***	17,36±2,70 **
			ЧМТ+ЦД	29,43±1,94 ^^###	34,16±2,75 ^^	39,30±2,64 ^^	38,21±2,80 ^^###
IL-4, фг/л	25,16±2,47	14,92±1,61**	ЧМТ	38,41±3,18 **	52,63±5,74 ***	56,07±5,58 ***	43,52±4,93 **
			ЧМТ+ЦД	10,75±1,53 ###	8,87±1,50^ ##	9,11±1,46^ ###	8,72±0,94 ^^###
IL-10, фг/л	10,65±0,82	7,11±0,76**	ЧМТ	18,73±1,84 ***	30,87±2,62 ***	28,93±2,85 **	19,24±2,41 **
			ЧМТ+ЦД	5,32±0,32^###	4,26±0,41^###	4,04±0,28^###	4,45±0,37^###

Примітки:

- \* – достовірність змін щодо показників у контрольних тварин;
- # – достовірність змін щодо показників у тварин із ЧМТ;
- ^ – достовірність змін щодо показників у тварин із ЦД (\*#^ – p<0,05; ###^^ – p<0,01; \*\*\*###^^ – p<0,001).

рівень їх не сягав норми. Так, рівень TNF- $\alpha$  статистично вірогідно збільшився в 3,7; 4,5; 3,6 і 1,4 раза відповідно через 3; 24 год, 5 і 14 діб після травми, IL-1 $\beta$  – в 2,1; 3,7; 3,4 і 1,6 раза відповідно, IL-2 – у 1,6; 3,5; 4,2 і 1,9 раза, IL-4 – 1,5; 2,2 і 1,7 раза, IL-10 – 1,8, 2,9, 2,7 і 1,8 раза відповідно до термінів експерименту.

За умов стрептозототиндукованого ЦД спостерігався виражений дисбаланс цитокінів, який полягав у статистично вірогідному збільшенні TNF- $\alpha$  в 2,8 раза, IL-1 $\beta$  – у 2,4 раза, IL-2 – в 1,9 раза, проте рівень IL-4 зменшився у 1,7, а IL-10 – в 1,5 раза.

Моделювання ЧМТ на тлі експериментального ЦД супроводжувалося збільшенням TNF- $\alpha$  на 38,8 % на 3 год експерименту, порівняно з тваринами без ЦД, і перевищував на 26,2; 63,4 і 318,7 % відповідно через 1, 5 і 14 діб посттравматичного періоду. Рівень IL-1 $\beta$  зріс на 95,5; 37,2; 45,7 і 221,5 % порівняно з тваринами після ізольованої ЧМТ відповідно до термінів експерименту. Спостерігалось збільшення IL-2 на 102,7 % через 3 год і на 120 % – через 14 діб після травми щодо показників у травмованих щурів без ЦД. IL-4 був меншим від аналогічних даних при ізольованій ЧМТ на 72; 83,1; 83,7 і 80 % відповідно до термінів посттравматичного періоду, а IL-10 – на 71,6; 86,2; 86 і 76,9 %.

Відомо, що за умов нормальної імунної реакції на запалення або знищення чужорідних або власних пошкоджених тканин відбувається локальне виділення цитокінів, що призводить до перебудови метаболізму та збільшення утворення енергії, активізації захисної реакції у вигляді гіпертермії та інших її проявів, стимуляції регенерації пошкоджених тканин та загоєння ран, захисту клітин від патогенної флори. Розвивається гострофазова реакція, що контролюється прозапальними медіаторами та їх ендogenous антагоністами [5, 8]. За умов критичного стану, коли медіатори утворюються в надлишку і регулюючі системи не здатні

підтримати гомеостаз, домінують деструктивні процеси, відбувається не лише збільшення енергопродукції, а “самоспалення” організму; йде не запальна реакція, що локалізує пошкоджуючий фактор, а капілярний витік рідини з інтерстиціальними набряками; відбувається не стимуляція регенерації і загоєння, а деструкція тканин [6]. Виходячи з гіпотези медіаторного пошкодження функцій і структур, слід вважати, що при критичному стані повинна одночасно виникати недостатність інших органів і систем, а не тільки того, що був підданий первинній агресії [4, 9].

Цитокіни вважаються “новою самостійною системою саморегуляції” імунітету, тісно пов’язаною з нервовою і ендокринною системами гомеостазу. Деякі автори підкреслюють, що саме ретельне вивчення профілю цитокінів у динаміці посттравматичного періоду дасть змогу прогнозувати перебіг травматичної хвороби з розвитком поліорганної недостатності вже в ранні терміни після травми [10].

**ВИСНОВКИ** Результати проведеного дослідження свідчать про дисбаланс в імунному статусі після перенесеної черепно-мозкової травми та цукрового діабету. Моделювання травми на тлі стрептозототинного діабету призводить до посилення дезорганізації системи імунореактивності за рівнями інтерлейкінів-1 $\beta$ , -2, -4, -10 і TNF- $\alpha$  порівняно з тваринами, яким було нанесено ЧМТ без супутнього цукрового діабету.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні гуморальної ланки імунітету за умов експериментальної черепно-мозкової травми та цукрового діабету.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001 р. – 528 с.

2. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
3. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Изд-во “Новый мир”, 2008. – 140 с.
4. Избранные аспекты патогенеза и лечения травматической болезни / В. Н. Ельский, В. Г. Климовицкий, С. Е. Золотухин [и др.]. – Донецк : “Лебедь”, 2003. – 360 с.
5. Левит Д. А. Острое катаболическое состояние при синдроме системного воспалительного ответа различной этиологии. Попытка клинического анализа / Д. А. Левит, И. Н. Лейдерман // Вестник интенсивной терапии. – 2006. – № 2. – С. 9–14.
6. Лихтерман Л. Б. Неврология черепно-мозговой травмы / Л. Б. Лихтерман. – М., 2009. – 500 с.
7. Пат. 74935 Україна, МПК G 09 B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання черепно-мозкової травми / Мерецький В. М.; заявник і патентовласник Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № u2012 06594; заявл. 30.05.2012; опубл. 12.11.2012, Бюл. № 21.
8. Прогностические критерии развития мультиорганной дисфункции у пострадавших с политравмой / Г. Г. Рощин, Н. Р. Малыш, И. П. Шлапак [и др.] // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаяєва. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 27–32.
9. Biological and clinical aspects of IL-6 / T. Hirano, S. Akira., T. Taga [et al.] // Immunol. Today. – 2007. – № 11. – P. 443–449.
10. The effect of traumatic brain injury upon the concentration and expression of interleukin-1 beta and interleukin-10 in the rat / K. Kamm, W. Vanderkolk, C. Lawrence [et al.] // J. Trauma. – 2006. – № 60(1). – P. 152–157.
11. Tumor necrosis factor alpha expression and protein levels after fluid percussion injury in rats: the effect of injury severity and brain temperature / E. A. Vitarbo, K. Chatzipanteli, K. Kinoshita [et al.] // Neurosurgery. – 2004. – № 55(2). – P. 416–424.

Отримано 28.12.12