

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.379-008.64-06:616.831-001.3-097]-092.9

© В. М. МЕРЕЦЬКИЙ, Г. Р. МАЛЯРЧУК

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"

**Особливості змін неспецифічного імунного захисту при експериментальній черепно-мозковій травмі у поєднанні з цукровим діабетом**

V. M. MERETSKYI, H. R. MALYARCHUK

SHEI "Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky"

**PECULIARITIES OF CHANGES IN NONSPECIFIC IMMUNE DEFENSES AT EXPERIMENTAL CRANIOCEREBRAL INJURY IN COMBINATION WITH DIABETES MELLITUS**

Проаналізовано результати дослідження титру комплементу і фагоцитарної активності нейтрофільних лейкоцитів крові за умов експериментальної черепно-мозкової травми, цукрового діабету та їх поєднання. Встановлено зменшення активності комплементу, пригнічення загальної активності фагоцитів та дефекти фагоцитозу після черепно-мозкової травми у поєднанні з цукровим діабетом, які свідчать про зниження неспецифічної реактивності організму, що сприяє персистенції інфекційних агентів, порушенню елімінації імунних комплексів з організму та визначає тяжкість і динаміку розвитку гнійно-септичних ускладнень.

There were analyzed the results of the study in titer of complement and phagocytic activity of neutrophil cells at experimental craniocerebral injury, diabetes mellitus, and their combinations. It was found reduced activity of complement, inhibition of total activity of phagocytes and phagocytosis defects after brain injury combined with diabetes, indicating reduced nonspecific reactivity that contributes to the persistence of infectious agents, violation elimination of immune complexes from the body and determine the severity and dynamics of purulent and septic complications.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Черепно-мозкова травма (ЧМТ) залишається одним із найбільш розповсюджених видів уражень. У загальній структурі травматизму ЧМТ складає близько 40 % [3]. Залежно від характеру уражень мозку і тяжкості потерпілих летальність за умов ЧМТ становить від 5 до 65 %. Накопичені фактичні дані свідчать про те, що закономірним наслідком травми є зміни з боку імунної системи. Незважаючи на безперервне вдосконалення антибактеріальної терапії і хірургічної тактики, інфекційні ускладнення (сепсис, септичний шок, пневмонія, нагноєння ран та ін.), які є одними з основних клінічних проявів імунної недостатності, нерідко призводять до летального наслідку, подовження часу госпіталізації у відділеннях реанімації, значно збільшують вартість терапії ЧМТ тощо [3, 10, 12]. Травми головного мозку супроводжуються розвитком місцевої запальної реакції, яка в ряді випадків набуває системного характеру і пов'язана з наявною імунологічною дисфункцією [9, 11].

Існує велика кількість даних, що стосуються стану нейтрофільної ланки при травмі і описують різноманітні феномени у різні періоди часу. У міру

міграції клітин у вогнище запалення у крові спостерігається збільшення кількості незрілих форм гранулоцитів зі зниженою здатністю до синтезу лейкотриєну В4 [10], збільшення інтенсивності метаболічних процесів при поглинанні і перетравленні чужорідних частинок у нейтрофілах, що виявляються у НСТ-тесті, спостерігається зниження числа клітин, що містять велику кількість катіонних білків, відбувається стійке зниження хемотаксичної активності лейкоцитів [8].

Загалом у періоді гострої реакції на травму відбуваються найбільш виражені порушення гомеостазу, які супроводжуються нейроендокринними реакціями з активацією симпатoadреналової системи, порушеннями судинного тону, розладами мікроциркуляції, порушеннями водно-електролітного балансу, змінами клітинного і гуморального імунітету, інгібіцією хемотаксису макрофагів і зниженням їх фагоцитарної активності, викидом гуморальних факторів, що запускають синдром системної запальної відповіді [3, 11].

Цукровий діабет (ЦД) на сьогодні є одним з найбільш поширених ендокринних захворювань. Доведено, що у патогенезі діабету та розвитку його

ускладненень важливу роль відіграють імунопатологічні процеси. Рецептори до інсуліну знайдені на нейтрофілах, моноцитах і активованих лімфоцитах. При розвитку ЦД 1-го типу основними чинниками деструкції інсуліносекретуючих клітин острівців Лангерганса за даної патології є Т-цитотоксичні лімфоцити та прозапальні цитокіни. Саме вони здійснюють як антигенспецифічне, так і антигеннеспецифічне знищення β-клітин. Найбільш вагомий вклад при цьому вносять такі цитокіни, як ІЛ-1, ТНФ та ІФН-γ. Слід також враховувати, що аутоагресія, яка направлена проти β-клітин, характеризується превалюючим розвитком клітинних реакцій імунітету, що запускаються антигенспецифічною активованою Тх1 популяцією лімфоцитів [7]. Незважаючи на великі успіхи, досягнуті в галузі експериментальної діабетології, багато питань, що стосуються функціонування імунної системи за умов цукрового діабету, залишаються невирішеними.

**Мета роботи:** встановити характер змін титру комплементу і фагоцитарної активності нейтрофільних лейкоцитів крові за умов експериментальної черепно-мозкової травми, цукрового діабету та поєднання цих патологій.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведено на 100 статевозрілих безпородних щурах-самцях, поділених на чотири експериментальні групи: I (n=10) – інтактні тварини (контроль), II – щури, яким моделювали черепно-мозкову травму (n=40), III – щури з експериментальним цукровим діабетом (n=10), IV – щури, яким моделювали ЧМТ на тлі ЦД (n=40). Тварин утримували у стандартних умовах віварію відповідно до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP [6]. Всі етапи експериментів

виконано згідно з міжнародними вимогами про гуманне поводження з тваринами відповідно до “Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 1986). ЦД викликали однократним внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (Sigma, США) у дозі 60 мг/кг [1]. Закрити ЧМТ моделювали за допомогою запропонованої нами методики [5]. Тварин виводили з експерименту через 3 і 24 год, 5 і 14 діб після травми в умовах тіопентало-натрієвого наркозу. Визначення активності комплементу в сироватці крові проводили за допомогою гемолізу сенсibiliзованих гемолізином еритроцитів у присутності комплементу [4]. Для визначення фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ) використовували метод, оснований на поглинанні мікроорганізмів нейтрофільними лейкоцитами при їх контакті з добовою культурою досліджуваного мікроба (*Staphilococcus aureus*, штам 209). Розраховували фагоцитарний індекс (ФІ) – середню кількість бактерійних клітин, захоплених одним нейтрофільним лейкоцитом, та % фагоцитозу – відсоток фагоцитуючих клітин відносно загальної кількості нейтрофілів [2]. Результати досліджень опрацьовували статистично із застосуванням t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Через 3 год після нанесення ЧМТ активність комплементу в сироватці крові (рис. 1) підвищилась на 15,1 % порівняно з контролем, максимальне зростання спостерігали на 24 год посттравматичного періоду – на 32,7 % і на 30,6 % – через 5 діб після травми з нормалізацією на 14-ту добу експеримен-

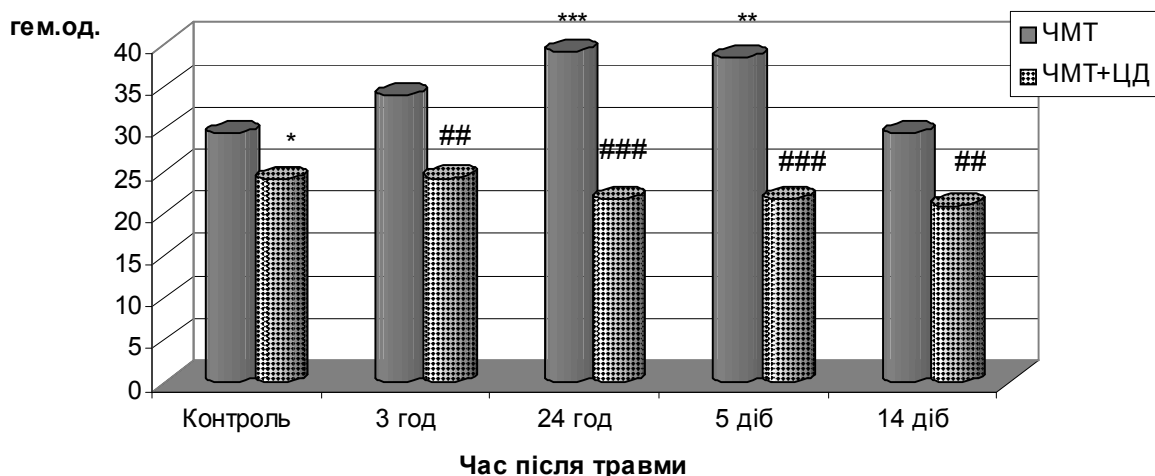


Рис. 1. Активність комплементу в сироватці крові тварин із черепно-мозковою травмою, цукровим діабетом та їх поєднанням.

Примітка. Тут і на рисунках 2, 3: статистична значущість змін відносно показників у тварин: \* – контрольної групи; # – з черепно-мозковою травмою; ^ – з цукровим діабетом (\*#^ – p<0,05; \*\*##^ – p<0,01; \*\*\*###^ – p<0,001).

ту. Стрептозоциновий ЦД супроводжувався статистично вірогідним зниженням титру комплементу на 18,2 % щодо контролю. У щурів-діабетиків, які зазнавали травматичного впливу, спостерігали статистично вірогідне падіння активності компонентів комплементу на 28,8, 44,5, 43,9 і 29,4 % через 3, 24 год, 5 і 14 діб після ЧМТ відповідно порівняно з травмованими тваринами без ЦД.

При аналізі функціональних властивостей фагоцитів у травмованих щурів спостерігали знижен-

ня ФІ, максимально виражене на 5-ту добу експерименту – на 24,2 % (рис. 2). Разом з тим, встановлено статистично вірогідне зниження % фагоцитуючих лейкоцитів на 26,4 і 25,7 % через 1 і 5 діб після ЧМТ відповідно (рис. 3).

Слід зазначити про істотний дефіцит ФАЛ за умов ЦД. ФІ при стрептозоциніндукованому ЦД був зниженим на 27,5 % ( $p < 0,01$ ), а відсоток лейкоцитів, які фагоцитували бактерії, – на 30,9 % ( $p < 0,01$ ) (рис. 2, 3).

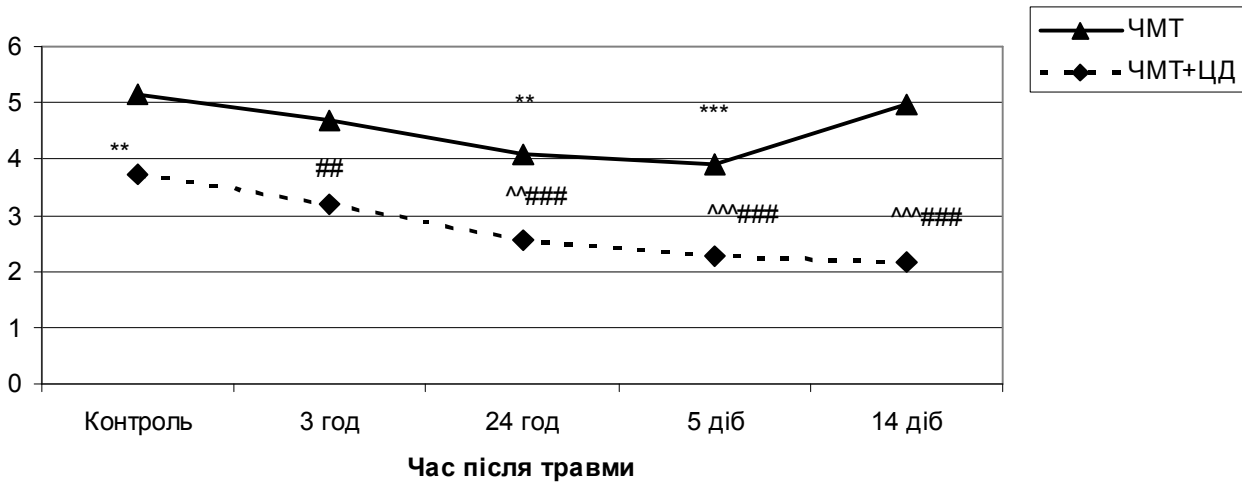


Рис. 2. Динаміка змін фагоцитарного індексу у тварин з черепно-мозковою травмою, цукровим діабетом та їх поєднанням.

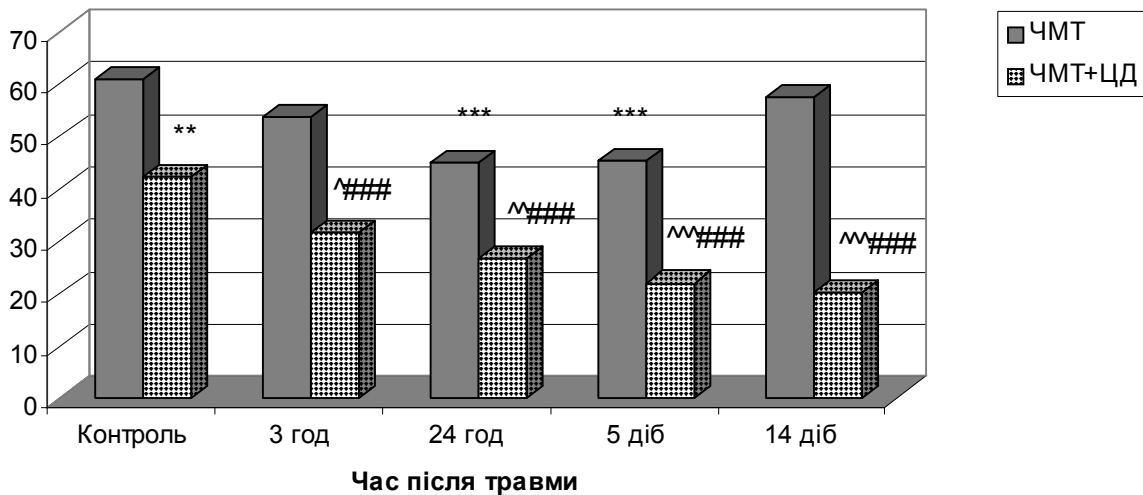


Рис. 3. Зміни показника % фагоцитозу у тварин за умов черепно-мозкової травми, цукрового діабету та їх поєднання.

У травмованих тварин із гіперглікемією спостерігали суттєве зменшення ФІ впродовж усього експерименту: на 32,3, 37,6, 42,2 і 56,4 % відповідно до термінів, порівняно з травмованими тваринами без ЦД, яке поєднувалось зі зниженням % фагоцитозу, відповідно, на 41, 40,4, 51,5 і 64,7 %.

На сьогодні доведено факт втягнення у травматичний процес імунокомпетентної системи організму [3, 9], яка змінюється у певній послідовності,

характеризуючи імунологічну періодизацію травматичної хвороби головного мозку. Фагоцитоз – це центральна ланка неспецифічного захисту організму від проникнення сторонніх екзогенних агентів, що є актуальним за умов травми внаслідок високого ризику приєднання бактеріальної інфекції. При аналізі функціональних властивостей фагоцитів ми спостерігаємо зниження фагоцитарного індексу і відсотка клітин, що фагоцитують, особливо вира-

жене за умов супутнього цукрового діабету. Вказані дефекти фагоцитозу у сукупності з недостатньою активністю комплементу сироватки крові у травмованих тварин з гіперглікемією призводять до зменшення резервів імунної системи організму та розвитку тієї чи іншої форми імунодефіциту.

**Висновки.** Таким чином, зменшення активності комплементу, пригнічення загальної активності фагоцитів та дефекти фагоцитозу після черепно-мозкової травми у поєднанні з цукровим діабетом

свідчать про зниження неспецифічної реактивності організму, що сприяє персистенції інфекційних агентів, порушенню елімінації імунних комплексів з організму та визначає тяжкість і динаміку розвитку гнійно-септичних ускладнень.

**Перспективи подальших досліджень.** У перспективі буде досліджено ступінь оксидативного стресу в нейтрофілах крові та інтенсивність апоптозу нейтрофілів при черепно-мозковій травмі та стрептозоточиніндукованому цукровому діабеті.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за редакцією чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Козлюк А. С. Иммунологические методы в гигиенических исследованиях / А. С. Козлюк, Л. А. Анисимов, И. Г. Шройт. – Кишинев : Штиинца, 1987. – 115 с.
3. Лихтерман Л. Б. Неврология черепно-мозговой травмы / Л. Б. Лихтерман. – М., 2009. – 500 с.
4. Новый метод определения общей активности комплемента и его клиническое значение / М. И. Леви, В. К. Ткачев, А. П. Еськов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 1. – С. 50–52.
5. Пат. 74935 Україна, МПК G 09 B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання черепно-мозкової травми / Мерцький 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.
6. Резников О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах / О. Г. Резников // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
7. Свінціцький А. С. Цукровий діабет 1-го типу, нові виклики та загрози / А. С. Свінціцький, В. В. Гирін // Науковий вісник Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. – 2009. – № 3. – С. 121–122.
8. Травма: воспаление и иммунитет / Н. М. Калинина, А. Е. Солюкин, Д. А. Вологжанин [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 28–34.
9. Osborn T. M. Epidemiology of sepsis in patients with traumatic injury / T. M. Osborn, J. K. Tracy, J. R. Dunne // Crit. Care Med. – 2004. – № 32. – P. 2234–2240.
10. Kelley B. J. Neuroinflammatory responses after experimental diffuse traumatic brain injury / B. J. Kelley, J. Lifshitz, J. T. Povlishock // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2007. – № 66. – P. 989–1001.
11. Lenz A. Systemic inflammation after trauma / A. Lenz, G. A. Franklin, W. G. Cheadle // Injury, Int. J. Care Injured. – 2007. – № 38. – P. 1336–1345.
12. MacKenzie E. J. Epidemiology of injuries: current trends and future challenges / E. J. MacKenzie // Epidemiol. Rev. – 2000. – № 22. – P. 112–119.

Отримано 26.04.13