

Проблеми екології та медицини

Том 10 №1-2 2006

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 1997 році

Виходить 1 раз на 2 місяці

З м і с т

- С Т А Т Т І -

ПРОБЛЕМИ СТОМАТОЛОГІЇ

АДАПТИВНИЙ ІММУНІТЕТ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Шинкевич В.И., Шешукова О.В.3

ІНТЕГРАТИВНА МОРФОЛОГІЯ

КОРЕЛЯТИВНА КОМП'ЮТЕРНА ДОМІНАНТНА МОДЕЛЬ СУДИННОЇ СИСТЕМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ ЯК ШЛЯХ
ВДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДИК ПРОВЕДЕННЯ РЕКОНСТРУКТИВНИХ ТА ПЛАСТИЧНИХ ОПЕРАЦІЙ
ХВОРИМ З ДЕФЕКТАМИ І ДЕФОРМАЦІЯМИ ТКАНИН ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ

Аветіков Д.С., Суровікін В.В., Фернебок О.В.8

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

ВЛИЯНИЕ ОКСИЭТИЛИРОВАННОГО КСИЛИТА НА НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЙ ОБМЕН ПОДОПЫТНЫХ
ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ПОДОСТРОГО ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Ващук Н.А., Зайцева О.В., Жуков В.И., Телегин В.А., Резуненко Ю.К.12

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТЕРАПІЯ РОЗИГЛІТАЗОНОМ ПРИ ІНДУКЦІЇ АЛОКСАНОВОГО ЦУКРОВОГО
ДІАБЕТА

*Кайдашев І.П., Куценко Л.О., Боброва Н.О., Куценко Н.Л., Беркало Л.В.,
Кайдашева Е.І.*16

УРОВЕНЬ СЫВОРОТОЧНЫХ ЦИТОКИНОВ (IL- 2, IL-10, IL-12, IL-18) У БОЛЬНЫХ IGE-ЗАВИСИМОЙ И IGE-НЕЗАВИСИМОЙ ФОРМОЙ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА

¹Курченко А.И., Фесенкова В.И., Дранник Г.Н. 19

ВПЛИВ ГІСТАМІНУ ТА ДЕЗЛОРАТАДИНУ НА ПРОЦЕСИ АПОПТОЗУ CD4⁺CD25⁺ Т РЕГУЛЯТОРНИХ КЛІТИН ДОНОРІВ IN VITRO

Куценко Н.Л. 21

ЙМОВІРНА РОЛЬ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ТРАНСЛОКАЦІЇ ІЗ КИШЕЧНИКА У ПАТОГЕНЕЗІ ХРОНІЧНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ

Пустовойт Г.Л. 26

ВПЛИВ ДЕЗЛОРАТАДИНУ ТА ФАМОТИДИНУ НА АПОПТОЗ ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ У ЩУРІВ

Ястремська І.А. 29

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

СИСТОЛІЧНА І ДІАСТОЛІЧНА ФУНКЦІЇ МІОКАРДА ПРАВОГО ШЛУНОЧКА У ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ХРОНІЧНОГО ЛЕГЕНЕВОГО СЕРЦЯ В СТАДІЇ ДЕКОМПЕНСАЦІЇ

Треумова С.І. 35

- С Т А Т Т І -

ПРОБЛЕМЫ СТОМАТОЛОГИИ

© Шинкевич В.И., Шешукова О.В.

УДК 616.314.18-002.4:612.017.1

АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Шинкевич В.И., Шешукова О.В.

Высшее государственное учебное заведение Украины

«Украинская медицинская стоматологическая академия», г.Полтава

У статті обговорюється роль імуніцитів – основних представників адаптивного імунітету, у деструкції власних тканин і остеорезорбції при запальних захворюваннях пародонту: періодонтиті та пародонтиті. Висвітлено локальні події адаптивної імунної відповіді із залученням дендритних, В- клітин, CD8⁺ Т- та CD4⁺ Т-клітин в аспекті прогресування захворювань. Наведено критичний огляд відомостей щодо етіології захворювань, відомого внеску імунних клітин у деструкцію, імуномодельючого впливу пародонтопатогенної інфекції, а також власні результати етіологічних та імунопатогенетичних досліджень. Подальші дослідження імунних механізмів, що мають місце при запальних захворюваннях пародонту, дозволять зрозуміти в цілому патогенетичний комплекс, отримати корисні й нові діагностичні та терапевтичні стратегії.

Ключові слова: пародонтит, імуніцит, Т-клітина, В-клітина, адаптивний імунітет.

В связи с внедрением и широким распространением новых микробиологических технологий, в частности полимеразной цепной реакции- (ПЦР-) анализа, в последнее время в научной литературе серьезно пересмотрена этиология периодонтитов, воспалительных заболеваний пародонта. Среди этиологических, т.н., пародонтопатогенных или периодонтопатогенных микроорганизмов сейчас названы: *Capnocytophaga*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Eikenella corrodens* [35]. Наиболее часто сообщается о 5 анаэробных видах: *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* (seu *Tannerella forsythensis*), *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* [22,44]. Важно, что исследования ключевых патогенов в пародонтальных карманах (десневых бороздках) и эндодонтически (в корневых каналах) дали практически одинаковые результаты [14], что позволило сформулировать один из главных выводов о принципиальной идентичности этиологических микроорганизмов для апикального периодонтита и хронического пародонтита.

Повреждения пародонта и периодонта, вызванные микроорганизмами, опосредованы прямыми и непрям-

ыми механизмами [28]. Прямое негативное влияние оказывают бактерии и их продукты: энзимы (коллагеназа, гиалуронидаза, хондроитиназа, кислая фосфатаза), эндотоксины и метаболиты (бутират, пропионат, полиамины аммония, сульфо-компаунды). Помимо этого, бактериальные компоненты: пептидогликаны, тейхоевая кислота, фимбрии, наружные мембранные протеины, капсула и липополисахариды (ЛПС) и др. стимулируют развитие иммунных реакций макроорганизма, способных вызывать тканевую деструкцию. Колонизация и инвазия патогенных микроорганизмов приводит к тканевой деградации посредством активации одного из разрушительных механизмов самого макроорганизма – металлопротеиназного, плазминоген-зависимого, фагоцитарного, механизма сериновых протеиназ ПМЯЛ-происхождения, RANKL-активации остеокластов и остеокластической костной резорбции; либо вызывает прямое расщепление экстрацеллюлярного матрикса микробными протеиназами. Активация этих эндогенных деструктивных механизмов может быть опосредована иммунным ответом, который влечет за собой экспрессию деградирующих клеточных фенотипов среди мигрирующих и резидентных клеточных популяций. Доказана связь перечисленных механизмов с локальной продукцией

провоспалительных цитокинов и факторов роста, а также с прямым действием микробных продуктов (ЛПС, энзимы, токсины) [10]. Таким образом, в настоящее время, большинство авторов рассматривают повреждения и патологические изменения в тканях пародонта как результат комбинированного воздействия микроорганизмов и защитных процессов самих тканей, даже преобладания в деструкции последних [9]. Поэтому целью нашего обзора является обсуждение вклада определенных клеток адаптивного иммунитета в тканевую деструкцию при воспалительных заболеваниях пародонта.

Не вдаваясь в подробности классификаций, одним из общих признаков периодонтитов и воспалительных заболеваний пародонта является резорбция костной ткани в месте локализации клеточной инфильтрации. Результаты собственных исследований по ПЦР-определению *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *B.forsythus*, *T.denticola*, *A.actinomycetemcomitans* в корневых каналах при хроническом периодонтите временных моляров и его обострении установили наличие минимум одного из микроорганизмов в подавляющем большинстве случаев. Определенного лидерства какого-либо одного из микроорганизмов не наблюдалось, и мы сделали вывод о значении всех 5 инфекций и микробных ассоциаций в этиологии хронического периодонтита временных зубов [5]. В то же время эти же микроорганизмы, как доказано, ассоциированы с хроническими пародонтитами.

В результате исследований клеток инфильтрата при пародонтите показан преимущественно лимфоидный его состав [3,42]. Нами проведены иммуногистохимические исследования инфильтратов при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП) и прикорневых грануляций при хроническом периодонтите временных моляров по выявлению в них основных иммунных клеток: $CD3^+$ общей Т-клеточной популяции, $CD20^+$ В-клеточной популяции, $CD8^+$ цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ), $CD4^+$ Т-клеток и $HLA-DR^+$ дендритных клеток (ДК) [1,11]. Результаты показали, что в инфильтратах присутствуют все перечисленные иммунные клетки. На представленных ниже иллюстрациях (рис.1-4) продемонстрированы наиболее многочисленные из них.

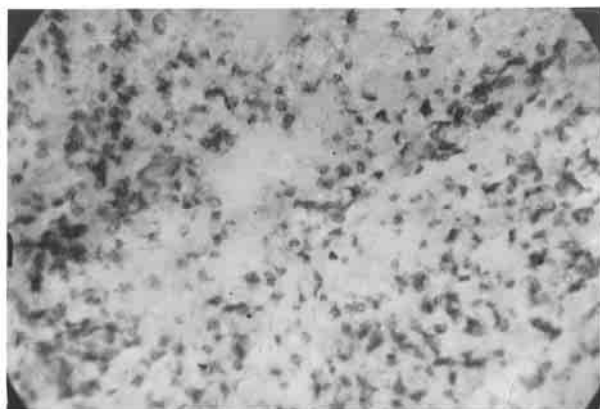


Рис. 1. $CD3^+$ клетки в прикорневой грануляционной ткани молочного моляра: криостатный срез 5-6 мкм; мкАТ1 - $CD3$ («Сорбент», Россия); проявка – аминотилкарбазон; контраст. – метиленовый синий; ув. х 60.

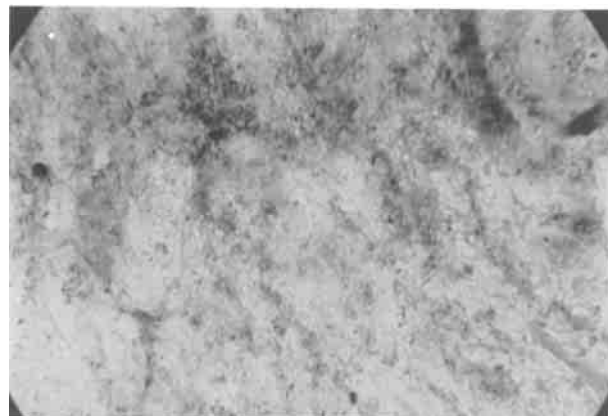


Рис. 2. $CD4^+$ клетки в прикорневой грануляционной ткани молочного моляра: криостатный срез 5-6 мкм; мкАТ1 – $CD4$ («Сорбент», Россия); проявка – аминотилкарбазон; контраст. – метиленовый синий; ув. х 60.

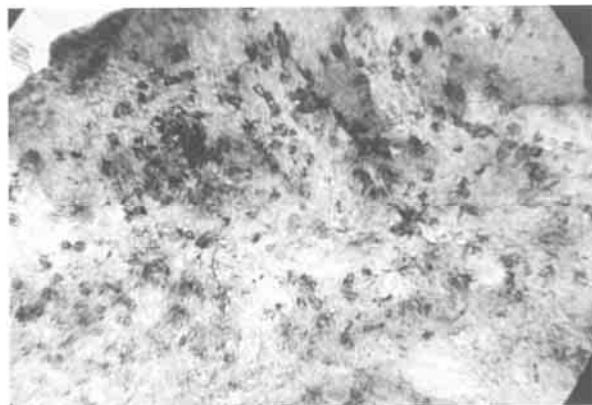


Рис. 3. $CD8^+$ клетки в тканях десны при ХГП II степени тяжести: криостатный срез 5-6 мкм; мкАТ1 – $CD8$ («Сорбент», Россия); проявка – аминотилкарбазон; контраст. – гематоксилин; ув. х 60.

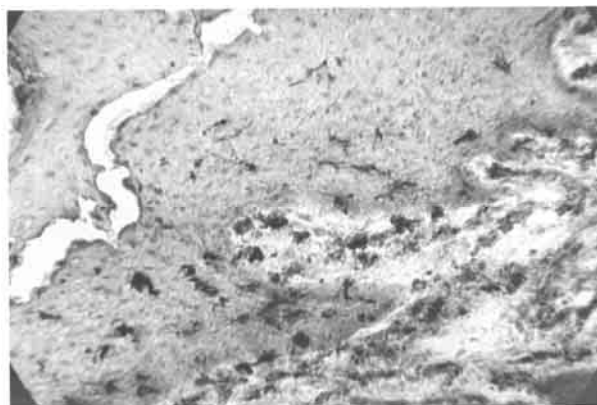


Рис. 4. $HLA-DR^+$ клетки (созревающие дендритные клетки) в тканях десны при ХГП II степени тяжести: криостатный срез 5-6 мкм; мкАТ1 – анти- $HLA-DR$ («Сорбент», Россия); проявка – аминотилкарбазон; контраст. – гематоксилин; ув. х 60.

В общих чертах, возникновение хронического пародонтита характеризуется ранними сосудистыми изменениями в периодонте с экссудацией и миграцией фагоцитирующих клеток: нейтрофилов и моноцитов, в соединительный эпителий и кривкулярную борозду в ответ на зубную бляшку, приобретающую особый состав из пародонтопатогенных бактерий, что

проявляется начальным воспалением десны (гингивитом). Эти проявления соответствуют работе врожденных механизмов иммунитета, которые, при нормальных условиях, являются протективными, хотя при воспалении тканей пародонта играют и защитную и деструктивную роль: макрофаги продуцируют провоспалительные цитокины ИЛ-1, ФНО- α , затем активируют наивные Т-, В-клетки [9]; нейтрофилы способствуют деструкции вследствие высвобождения протеиназ MMP-2, MMP-9, цитокинов: ИЛ-1, ФНО- α , антагониста ИЛ-1-рецептора [32,40]. При продолжающейся персистенции микробной биопленки к ответу подключаются $\gamma\delta$ Т-клетки, NK Т-клетки и, как показано, начинают продуцировать значительные количества цитокинов после контакта с антигенами зубной биопленки [19]. Клиническая картина дополняется увеличением лейкоцитарных инфильтратов в соединительной ткани, утратой периваскулярных коллагеновых волокон и пролиферацией соединительного эпителия. В итоге инфильтрат может состоять преимущественно из Т-клеток или В-клеток, что отображает развитие адаптивного иммунного ответа. Точные механизмы взаимодействия между врожденным и адаптивным звеньями иммунитета, приводящие к стабилизации заболевания еще до начала остеорезорбции, не известны [41], тем не менее, было показано, что ранние взаимодействия между клетками адаптивного иммунитета и $\gamma\delta$ Т-, NK Т-клетками, моноцитами/макрофагами, ДК [8] могут вести к резкому утяжелению пародонтита.

Известно, что и клеточно-опосредованный и гуморальный иммунные ответы играют важную роль в защите против пародонтальных инфекций [17]. Однако, вопрос о конкретных вкладах иммуноцитов в прогрессирование воспалительных заболеваний пародонта дискутируется, кроме положения о его одновременно двусторонней направленности: и защитной и деструктивной. ДК играют ключевую роль в механизмах врожденного и адаптивного иммунитета. Многочисленные ДК присутствуют *in locus morbi* при ХГП [3,29,31], и при пародонтитах [2], и ДК являются естественными адьювантами иммунных ответов, влияют на их поляризацию, способны к локальным межклеточным взаимодействиям и продукции цитокинов [4,13]. Один из механизмов вклада ДК в поддержание воспаления *in situ* при пародонтите, периодонтите – это влияние на цитокиновое микроокружение. Миграция ДК в регионарные лимфоузлы с последующим примированием наивных Т-клеток во многом обуславливает последующие события. По-видимому, роль ДК не является непосредственной в деструктивных процессах пародонта. Тем не менее, ключевой она может быть для индукции аутоиммунных процессов при ХГП [31].

Роль гуморального антигенспецифического иммунитета в большей степени считается защитной при пародонтитах. В-клетки, выявленные в десне при хроническом пародонтите, продуцируют главным образом IgG, и лишь некоторые IgA [16]. Было показано, что IgA и IgG4 субклассы способствуют уменьшению воспаления во время хронической инфекции слизистых оболочек [37]. А временное истощение В-клеток *in vivo* приводило к усиленной остеорезорбции при комбинированной инфекции *A.viscosus* и *P.gingivalis* [27]. И, наконец, на модели пародонтита у животных показано, что В-клетки не являются необходимыми

для деструкции костной ткани альвеолярной кости [24]. Тем не менее, при заболеваниях пародонта показана апрегуляция экспрессии CD86 и CD83 на В-клетках, что позволяет считать эти клетки потенциальными антиген-презентирующими клетками (АПК), которые регулируют и поддерживают локальный Т-клеточный ответ [43]. Важно, что плазматические клетки, инфильтрирующие десну при пародонтите, способны синтезировать не только защитные антитела против пародонтопатогенов, но и антитела другой, не оральной специфичности [7], и, очевидно, аутоантитела, поскольку, как доказано ранее в патогенез пародонтита вовлечены аутоиммунные процессы в основном на коллаген 1-го, 3-го, 4-го, 5-го типов [21]. Недавние исследования продемонстрировали, что В-клетки способны продуцировать RANK-L, ФНО- α , ИЛ-6, MIP-1 α , MCP-3 и ИЛ-1 β , которые вовлечены в активацию остеокластогенеза *in vitro* [33].

Гуморальный иммунный ответ, как правило, нуждается в Т-клеточном участии. Наличие Т-клеток в составе инфильтратов тканей пародонта при хроническом пародонтите, при периодонтите не вызывает сомнений. Роль классических CD8 $^{+}$ $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов (ЦТЛ) предположительно не является ведущей в иммуноопосредованной тканевой деструкции при пародонтите [12,18], хотя имеются сведения, полученные при некоторых формах артритов, о способности активированных ЦТЛ экспрессировать RANK-L, CD40L и ФНО- α [6].

При пародонтите было выявлено повышенное число активированных интраэпителиальных ЦТЛ (CD8 $^{+}$ $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов) в периферической крови и локально, в десне [15] и предположен их вклад в модулирование развития адаптивного иммунного ответа через экспрессию цитокинов и реализацию цитолитической активности [38].

Возможность перекрестной реактивности $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов с белками теплового шока бактериального происхождения и собственными может быть одним из механизмов индукции аутоиммунитета *in situ* при пародонтите [20].

Для CD4 $^{+}$ лимфоцитов было показано прямое участие в остеорезорбции, вследствие экспрессии RANK-L после активации типичными пародонтопатогенными микроорганизмами [42]. Многочисленные исследования Tx1/Tx2- цитокиновых профилей *in situ* при пародонтите привели к выводу о том, что оба они способствуют костной деструкции [26], хотя интерпретаций выявляемого преобладания цитокинов несколько – что цитокины Tx1 клеток опосредуют деструкцию, а Tx2- цитокины (ИЛ-10, ТФР- β) служат для тканевого гомеостаза, репарации или ремоделирования во время воспаления [26]; цитокиновый профиль может отображать стадии развития заболевания [25], индивидуальные особенности иммунорегуляции, в некоторой степени характеристики специфических пародонтопатогенов и др. [42].

Наличие сенситизированных аутоантигенами пародонта CD4 $^{+}$ клеток и представительство этих клеток *in situ* при пародонтите совместно с ДК и В-клетками, предполагает трехклеточную кооперацию и продукцию аутоантител [3] (Рис.5). Совместно, приведенные данные демонстрируют центральную иммунопатогенетическую роль CD4 $^{+}$ клеток в деструкции тканей пародонта.

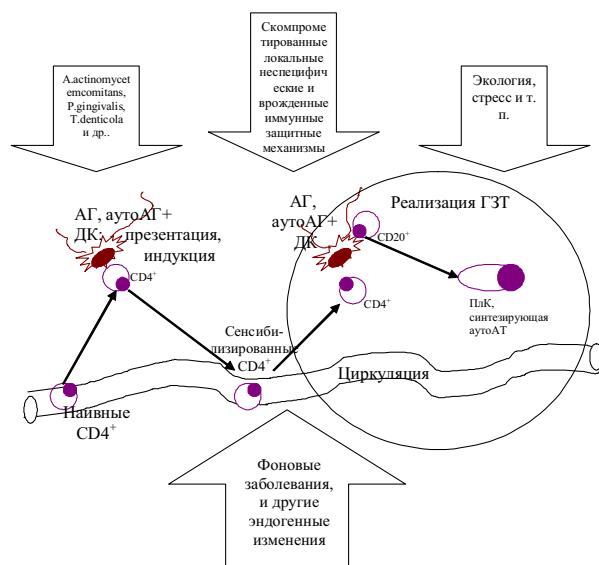


Рис. 5. Схема реализации локальных аутоиммунных механизмов при ХГП:
АГ – антиген; АТ – антитела; ПлК – плазматическая клетка;

Примечание. Схема отображает собственные результаты, стрелками обозначены ранее известные звенья патогенеза ХГП [10].

Обсуждение вопроса о том, как же призванный быть защитным иммунный ответ может вносить вклад в деструкцию собственных тканей было бы неполным, если не упомянуть об иммуномодулирующем влиянии пародонтопатогенных бактерий. Протеолитическая система *P. gingivalis*, представителями которой являются цистеиновые протеиназы, или гингипаины, дисрегулируют большинство механизмов, контролирующих воспаление [36]. Путем неконтролируемой активацией калликреин-кининовой системы и коагуляции, гингипаины способствуют локальной генерации брадикинина и тромбина – воспалительных реагентов со строгим, хоть и непрямым, эффектом стимуляции остеорезорбции. Способность взаимодействовать с цитокинами потенциально нарушает регуляцию локального воспаления, например, они гидролизуют ИЛ-12 [23]; гингипаины владеют сильным влиянием на механизмы, контролирующие активность матриксных металлопротеиназ макроорганизма на уровне генной экспрессии и активации зимогена. FACS-анализ *P. gingivalis*-специфических Т-клеток показал продукцию обоих профилей цитокинов, не зависимо от взаимодействия с АПК [34]. *P. gingivalis* и *P. intermedia* способны индуцировать усиленную продукцию ИЛ-8 и ИЛ-6 у фибробластов, что может усиливать воспаление [30,39].

В последнее время появились сообщения об иммуномодулирующем влиянии вирусов при развитии хронических пародонтитов. В частности установлена ассоциация ВИЧ-инфекции и определённой формы пародонтита, - так называемой некротической; подтверждено, что ВИЧ-инфекция способствует развитию хронических пародонтитов; показана связь герпесвирусов с заболеваниями пародонта: признаки активации этих вирусов выявлены в кревикулярной жидкости в очагах поражения [11]. Тем не менее, для дальнейших выводов необходимы заключения относитель-

но выбора проб и методов исследования вирусов как этиологии заболеваний пародонта.

Приведенные данные демонстрируют многогранность иммуномодуляции пародонтопатогенной инфекции. Дальнейшие исследования иммунных механизмов, имеющих место при воспалительных заболеваниях пародонта, позволят понять в целом патогенетический комплекс, получить полезные и новые диагностические и терапевтические стратегии.

Литература

1. Декларационный патент Украины № 48519 А, МПК 7 А61С17/00. Спосіб оцінки функціонального стану слизової оболонки порожнини рота / Кайдашев І.П., Ткаченко П.І., Куроедова В.Д. та ін. (Україна). - Заявл.24.09.2001; Опубл.15.08.2002, Бюл.№ 8.-3с.
2. Дендритные клетки в периапикальных воспалительных повреждениях. Иммуноэлектронный микроскопический анализ / Т. Канеко, Х. Суда, М. Такаги и др. // Российский стоматологический журнал.-2003.-№2.-С.7-9.
3. Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. Характеристика імунних клітин слизової оболонки ясен при хронічному генералізованому пародонтиті відповідно ступенів тяжкості // Імунологія та алергологія.-2004.-№ 4.-С.15-19.
4. Роль дендритных клеток в обеспечении локального иммунитета полости рта / И.П. Кайдашев, Л.И. Волошина, О.А. Карасюнок и др. // Український стоматологічний альманах.-2001.- №5.-С.80-87.
5. Шешукова О.В., Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. Зв'язок між наявністю пародонтопатогенної інфекції у кореневих каналах і гістологічними особливостями грануляційної тканини при хронічному пародонтиті тимчасових зубів // Вісник проблем біології і медицини.-2006.-Вип.2.-С.413-416.
6. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in arthritis via OGPL / Y.Y. Kong, U. Feige, I. Sarosi et al. // Nature.-1999.-Vol.402.-P.304-309.
7. Antibody synthesis specific for nonoral antigens in inflamed gingiva / S.M. Mallison, A.K. Szakal, R.R. Ranney, J.G. Tew // Infect Immun.-1988.-Vol.56, N 4.-P.823-830.
8. Bachmann M.F., Kopf M. Balancing protective immunity and immunopathology // Curr Opin Immunol.-2002.-Vol.14.-P.413-419.
9. Baker P.J. The role of immune responses in bone loss during periodontal disease // Microbes and Infection.-2000.-Vol.2, Issue 10.-P.1181-1192.
10. Bircedal-Hensen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction // J Periodontal Res.-1993.-Vol.28, N 6.-P.500-510.
11. Capuyns I., Gugerli P., Mombelli A. Viruses in periodontal disease – a review // Oral Diseases.-2005.-Vol.11, Issue 4.-P.219.
12. CD4(+) T cells and the proinflammatory cytokines gamma interferon and interleukin-6 contribute to alveolar bone loss in mice / P.J. Baker, M. Dixon, R.T. Evans et al. // Infect Immun.-1999.-Vol.67.-P.2804-2809.
13. Characterization of dendritic cells from the oral mucosa: new Langerhans' cell type with high constitutive Fc epsilon RI expression / J.P. Allam, N. Novak, C. Fuchs et al. // Allergy Clin Immunol.-2003.-Vol.112.-P.141-148.
14. Comparison of profiles of key periodontal pathogens in periodontium and endodontium / S. Rupf, S. Kannengieser, K. Merte et al. // Endod.Dent.Traumatol.-2000.-Vol.16, N6.-P.269-275.
15. Cytokine profiles of T-lymphocytes from gingival tissues with pathological pocketing / O. Takeichi, J. Haber, T. Kawai et al. // J Dent Res.-2000.-Vol.79.-P.1548-1555.
16. Cytokine regulation of localized inflammation. Induction of activated B cells and IL-6-mediated polyclonal IgG and IgA synthesis in human gingiva / Y. Kono, K. W. Beagley, J. R. McGhee et al. // J. Immunol.-2004.-Vol.172.-P.4167-4175.
17. Ebersole J.L., Taubman M.A. The protective nature of host responses in periodontal diseases // Periodontol.-1994.-Vol.200, N 5.-P.112-141.

18. Functional human T-cell immunity and osteoprotegerin-ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection / Y.-T.A. Teng, H. Nguyen, X. Gao et al. // J Clin Invest.-2000.-Vol.106.-P.R59-R67.
19. Gadue P., Stein P.L. NK T cell precursors exhibit differential cytokine regulation and require Itk for efficient maturation. // J Immunol.-2001.-Vol.169.-P.2397-2406.
20. Goulhen F., Grenier D., Mayrand D. Oral microbial heat-shock proteins and their potential contributions to infections // Crit. Rev. Oral. Biol. Med.-2003.-Vol.-14, N 6.-P.399-412.
21. Hahn C. L., Schenkein H.A., Tew J. G. Polyclonal B cell activators and in vitro induction of auto-antibody reactive with collagen // Periodontal Res.-1997.-Vol.32, N 7.-P.608-613.
22. Humoral responses to porphyromonas gingivalis gingipain adhesion domains in subjects with chronic periodontitis / K.-A. Nguyen, A.A. DeCarlo, M. Paramasvaran et al. // Infect.Immun.-2004.-Vol.72, N 6.-P.3260-3266.
23. Hydrolysis of Interleukin-12 by Porphyromonas gingivalis Major Cystein Proteinases May Affect Local Gamma Interferon Accumulation and the Th1 or Th2 T-Cell Phenotype in Periodontitis / P. L. Yun, A. A. Decarlo, C. Collyer, N. Hunter // Infect. Immunity.-2001.-Vol.69, N 9.-P.5650-5660.
24. Immunization with the RgpA-Kgp proteinase-adhesin complexes of *Porphyromonas gingivalis* protects against periodontal bone loss in the rat periodontitis model / P.S. Rajapakse, N.M. O'Brien-Simpson, N. Slakeski et al. // Infect Immun.-2002.-Vol.70.-P.2480-2486.
25. Infante-Duarte C., Kamradt T. Th1/Th2 balance in infection // Springer Semin Immunopathol.-1999.-Vol.21.-P.317-338.
26. Kinane D.F., Lappin D.F. Clinical, pathological and immunological aspects of periodontal disease. Acta Odontol Scand.-2001.-Vol. 59.-P.154-160.
27. Klausen B., Hougen H.P., Fiehn N.E. Increased periodontal bone loss in temporarily B lymphocyte deficient rats // J Periodontal Res.-1989.-Vol.24.-P.384-390.
28. Lacevic A., Vranic E., Zulic I. Etiological findings in endodontic-periodontal infections // Bosn J Basic Med Sci.-2004.-Vol.4, N 1.-P.57-61.
29. Lamina propria dendritic cells express activation markers and contact lymphocytes in chronic periodontitis / C. Cirincione, N. Pimpinelli, L. Orlando, P. Romagnoli // J Periodontol.-2002.-Vol.73.-P.45-52.
30. Lipopolysaccharides of *Bacteroides intermedius* (*Prevotella intermedia*) and *Bacteroides* (*Porphyromonas*) *gingivalis* induce interleukine-8 gene expression in human gingival fibroblast cultures / M. Tamura, M. Tokuda, S. Nagaoka, H. Takada // Infect.Immun.-1992.-Vol.60, N11.-P.4932-4937.
31. Mature dendritic cells infiltrate the T cell-rich region of oral mucosa in chronic periodontitis: *in situ*, *in vivo*, and *in vitro* studies / R. Jotwani, A.K. Palucka, M. Al-Quotub et al. // J Immunol.-2001.-Vol.167.-P.4693-4700.
32. McCulloch C.A. Collagenolytic enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis // Ann NY Acad Sci.-1994.-Vol.732.-P.152-164.
33. Osteoclastogenesis is enhanced by activated B cells but suppressed by activated CD8(+) T cells / Y. Choi, K.M. Woo, S.H. Ko et al. // Eur J Immunol.-2001.-Vol. 31.-P.2179-2188.
34. P.gingivalis-specific T-cell Lines Produce Th1 and Th2 Cytokines / E. Gemmell, C.L. Carter, D.A. Grieco et al. // J Dent Res.-2002.-Vol.81, N 5.-P.303-307.
35. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections / A.F. Fouad, J. Barry, M. Caimano et al. // J.Clin.Microbiol.-2002.-Vol.40, N9.-P.3223-3231.
36. Potempa J., Banbula A., Travis J. Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses // Periodontol.-2000.-Vol.24.-P.153-192.
37. Reversal of proinflammatory response by ligating the macrophage Fcγ receptor / F.S. Sutterwala, G.J. Noel, P. Salgame, D.M. Mosser // J Exp Med.-1998.-Vol.188.-P.217-222.
38. Sugita M., Brenner M.B. T lymphocyte recognition of human group 1 CD1 molecules: implications for innate and acquired immunity // Semin Immunol.-2000.-Vol.12.-P.511-516.
39. Takeshita A., Imai K., Hanazawa S. CpG Motifs in *Porphyromonas gingivalis* DNA Stimulate Interleukin-6 Expression in Human Gingival Fibroblasts // Infect. Immunity.-1999.-Vol.67, N 9.-P.4340-4345.
40. Teng Y.T., Sodek J., McCulloch C.A. Gingival crevicular fluid gelatinase and its relationship to periodontal disease in human subjects // J Periodontal Res.-1992.-Vol.27.-P.544-552.
41. Teng Y.-T.A. Mixed periodontal Th1/Th2 cytokine profile in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-specific osteoprotegerin-ligand-mediated alveolar bone destruction *in vivo* // Infect Immun.-2002.-Vol.70.-P.5269-5273.
42. Teng Y.-T.A. The role of acquired immunity and periodontal disease progression // Crit Rev Oral Biol Med.-2003.-Vol.14, N4.-P.237-252.
43. Upregulation of co-stimulatory molecular expression and dendritic cell marker (CD83) on B cells in periodontal disease / R. Mahanonda, N. Sa-Ard-lam, K. Yongvanitchang et al. // J. Periodontal. Res.-2002.-Vol.37, N 3.-P.177-183.
44. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis* / S.C. Holt, L. Kesavalu, S. Walker, C.A. Genco // Periodontol.-2000.-Vol.20.-P.168-238.

Summary

THE ROLE OF ACQUIRED IMMUNITY IN PATHOGENESIS OF PERIODONTAL DISEASE

Shinkevich V., Sheshukova O.

Key words: periodontal disease, immunocell, T-cell, B-cell, acquired immunity.

The paper is devoted to the role of immunocells, that are main represents of acquired immunity, in a host tissue destruction and alveolar bone loss at inflammatory periodontal diseases: periodontitis and parodontitis. The present review will focus on some recent advances in acquired immune responses involved dendritic cells, B-cells, CD8⁺ T-cells, and CD4⁺ T-cells in the context of periodontal disease progression. Here we analyzing recent studies about etiology, investigated participate of immunocells in destruction, immunomodulation influence of parodontopathogenic infections, and own results on by etiological and immunopathogenetical studying at periodontal disease. New approaches will further facilitate our understanding of their underlying mechanisms that may lead to the development of new treatment modalities for periodontal diseases and their associated complications.

**Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Ukrainian Medical Stomatological Academia,
Shevchenko Str., 23, Poltava, 36024**

Матеріал надійшов до редакції 15.06.06.

ІНТЕГРАТИВНА МОРФОЛОГІЯ

© Аветіков Д.С., Суровікін В.В., Фернебок О.В.

УДК: 616-089.844

КОРЕЛЯТИВНА КОМП'ЮТЕРНА ДОМІНАНТНА МОДЕЛЬ СУДИННОЇ СИСТЕМИ ГОЛОВИ ТА ШИЇ ЯК ШЛЯХ ВДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДИК ПРОВЕДЕННЯ РЕКОНСТРУКТИВНИХ ТА ПЛАСТИЧНИХ ОПЕРАЦІЙ ХВОРИМ З ДЕФЕКТАМИ І ДЕФОРМАЦІЯМИ ТКАНИН ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ

Аветіков Д.С., Суровікін В.В., Фернебок О.В.

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Центр комп'ютерних технологій, м. Полтава

Работа была посвящена разработке коррелятивной компьютерной доминантной модели сосудистой системы бассейна наружной сонной артерии и ее ветвей, как питающих сосудов ангиосомных лоскутов на голове и шее. Для визуализации построенной модели использовался программный пакет Pcad. Созданная корреляционная компьютерная модель сосудистой системы внешней сонной артерии за счет знания топографоанатомических ориентиров ее ветвей в зависимости от формы головы упрощает методику поднятия и мобилизации ангиосомных лоскутов головы и шеи, что существенно сокращает время проведения операции. Для практического применения хирургами вышеупомянутого программного обеспечения, включенная возможность добавления расчетных данных после прогнозирования в стандартизационную таблицу уменьшит величину погрешности при проведении прогнозирования в дальнейшем.

Ключевые слова: доминантная модель, внешняя сонная артерия, компьютерная модель, ангиосом.

Вступ

Реконструктивні та пластичні операції ангиосомними клаптями на голові та шиї на сьогоднішній день є найбільш сучасними при заміщенні дефектів тканин щелепно-лицевої ділянки [2, 4, 7]. Але при піднятті та мобілізації ангиосомних клаптів існує багато проблем пов'язаних з особливістю топографоанатомічної локалізації живлячих судин [1, 5].

Людський організм складний, добре збалансований механізм, що підкоряється складним законам [3, 6]. І кожне таке правило варіюється в залежності і відповідно до індивідуальних характеристик кожного, окремо взятого організму [1, 5, 7].

Метою дослідження було базуючись на топографоанатомічних дослідженнях розробити корелятивну комп'ютерну домінуючу модель судинної системи басейну зовнішньої сонної артерії та її гілок, як центральних живлячих судин ангиосомних клаптів на голові і шиї.

Робота є фрагментом теми «Розробка і удосконалення методів діагностики, лікування, реабілітації і профілактики вроджених і набутих захворювань, дефектів і деформацій щелепно-лицевої ділянки», яка виконується на кафедрі пропедевтики хірургічної стоматології з реконструктивною хірургією голови і шиї, номер державної реєстрації 0105V004081.

Матеріали і методи дослідження

У ході топографоанатомічного дослідження на 19 бальзамованих і 23 свіжих трупах використовувалися методики пошарового анатомічного препарування, наливка судин пластмасами з барвником, виготовлення анатомічних корозійних препаратів. Створення корелятивної судинної моделі проходило з використанням стандартного комп'ютерного пакету PCAD та програми тривимірного моделювання 3D-Studio Max.

Результати та їх обговорення

Якщо розглянути людину з боку судинної системи, то на перший погляд, ця дуже густа «сітка» абсолютно однакова в кожній людині. Але при більш детальному розгляді, при вивченні магістральних судин і їх відгалужень стає помітно, що це далеко не так. І хоча ця індивідуальність дуже упадає в око, при проведенні вимірів стає ясно, що усі вони зберігають основні свої напрямки, розміри і розміщення (Рис. 1).

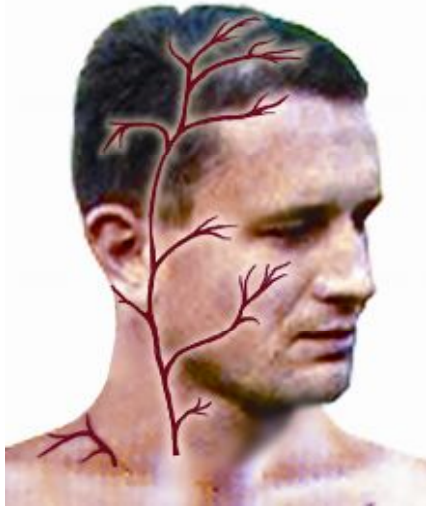


Рис. 1. Ангіосомні донорські зони.

Це наштовхнуло на думку, що можливо створення корелятивної домінантної моделі судинної системи.

У процесі вивчення визначеної кількості анатомічних препаратів гілок зовнішньої сонної артерії були зроблені виміри геометрії і параметрів їх проходжень. На підставі отриманих даних був сформований експериментальний ряд. Шляхом приведення вибірки по двоїстим середнім була виведена кореляційна матриця. Після чого, використовуючи Симплекс-метод, отримані середні значення відрізкової геометрії, глибини залягання і кутів проходження даних артерій.

На підставі отриманих усереднених значень була побудована просторова модель (Рис. 2).

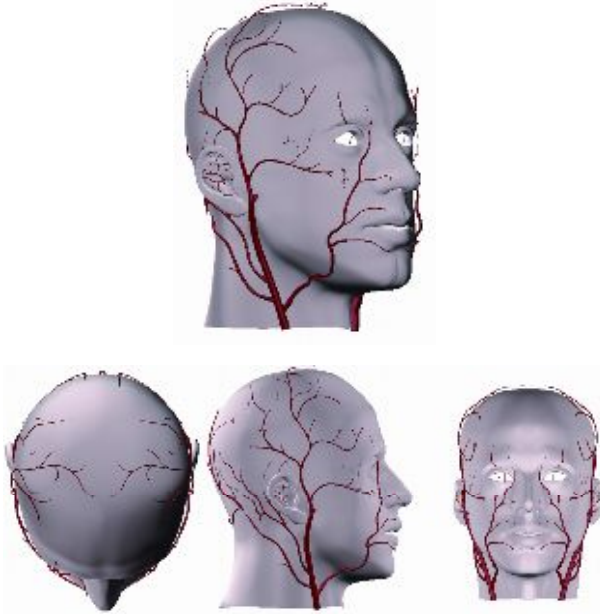


Рис. 2. Комп'ютерне моделювання гілок зовнішньої сонної артерії.

Для візуалізації побудованої моделі використовувався програмний пакет Pscad. Отримана модель хоча і була перетворена в простий графічний формат, але все-таки, такий підхід до моделювання і прогнозування анатомії судин жадає від хірурга не тільки доско-

нальних знань використання вищезгаданого програмного пакета, але так само вимагає знань в області статистичного математичного програмування і прогнозування.

Оцінюючи всі недоліки і достоїнства проведеної роботи, ми поставили перед собою автоматизувати й оптимізувати зусилля хірурга по прогнозуванню проходження і пошуку судин в ділянці проведення операції.

У процесі роботи над цією проблемою були проведені цілеспрямовані топографо-анатомічні дослідження анатомії гілок зовнішньої сонної артерії в залежності від форми голови, статі і віку, у результаті чого була отримана деяка сукупність практичних значень, як результат промірів кожної магістральної судини і його основних гілок. Вся ділянка голови була розбита на зони з указівкою ангіосомних клаптів, що стандартно використовуються і можливих зон для забору трансплантатів, що дало можливість виконання угруповань.

Усі можливі варіанти проходження судин були описані за схемою: «СТАТЬ» - «ФОРМА ГОЛОВИ» - «ІНДЕКСИ ЧЕРЕПА» - «ВІК» - «СУДИНА» - «ГЕОМЕТРИЧНІ РОЗМІРИ».

Для розрахунку прогнозованих параметрів нами був застосований статистичний метод за критерієм Фішера, для вирахування фактичного критерію відхилення.

Особливе місце серед статистичних методів вивчення біологічних процесів займає метод аналітичних угруповань. Цей метод дозволяє виявити взаємозв'язок між різними процесами й ознаками.

Одиниці сукупності, що досліджувалась були розбиті на групи за особливими факторними ознаками, і для кожної групи обчислюється середня або відносна величина результативної ознаки. Для виявлення наявності і характеру зв'язку між середніми і відносними значеннями результативних ознак було проведено зіставлення їх значень.

Хоча метод аналітичних угруповань широко застосовується в наукових дослідженнях при аналізі взаємозв'язку різних явищ, але його застосування у відриві від дисперсійного аналізу не завжди досить обґрунтовано. Самі по собі розходження між груповими середніми, особливо при невеликому обсязі сукупності, не є доказом існування залежності між ознаками. Вони можуть мати випадковий характер. Крім того, аналітичні угруповання нічого не говорять про ступінь впливу факторної ознаки на досліджуване явище.

Для того, щоб уникнути суб'єктивних висновків, оцінити вірогідність угруповання і визначити міру впливу різних факторів нами було застосоване сполучення методу аналітичних угруповань з дисперсійним аналізом.

Тим часом, у медичних дослідженнях, застосування дисперсійного аналізу — явище рідке. Будь-які розходження між груповими середніми визнаються звичайно істотними без усякої статистичної перевірки. Міра впливу різних факторів на зміну результативної ознаки не встановлюється.

Дисперсійний же аналіз дозволяє оцінити вірогідність і об'єктивність результатів угруповання, визначити міру впливу окремих факторів на явище, що досліджується, у даному випадку геометричні параметри судин.

Оцінка зазначених параметрів проводиться за допомогою коефіцієнта варіації:

$$V = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100,$$

$$\text{де } \bar{X} = \frac{\sum X_i Y_i}{\sum Y_i} \text{ — середнє значення ознаки,}$$

$\sigma = \sqrt{\sigma^2}$ — середнє квадратичне відхилення,

$$\sigma^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2 Y_i}{\sum Y_i},$$

де X_i — перемінне значення ознаки;
 Y_i — число одиниць у групі.

У поточному дослідженні коефіцієнт варіації визначається за допомогою функції:

$$V = \frac{\sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2 Y_i}{\sum Y_i}}}{\frac{\sum X_i Y_i}{\sum Y_i}}.$$

Для визначення міри варіації результативної ознаки ми визначаємо факторну дисперсію:

$$D_{\phi}^2 = \sum (\bar{X}_i - \bar{X})^2 Y_i,$$

де \bar{X}_i — групові середні

\bar{X} — загальна середня

Y_i — частота значень X_i .

Для визначення міри впливу на варіацію результативної ознаки усіх факторних ознак, за винятком покладеного в основу угруповання, визначаємо внутрігрупову дисперсію:

$$D_{\phi}^2 = \sum \sum (\bar{X}_i - \bar{X})^2 Y_i$$

Дисперсійний аналіз дозволяє не тільки визначити вплив групових факторів на зміну результативної ознаки, але і дає можливість об'єктивно оцінити вірогідність залежностей між ознаками. Зміст оцінки вірогідності висновків, зроблених на основі угруповання, зводиться до перевірки істотності розходжень між груповими середніми. Для його обчислення спочатку визначаються «виправлені» дисперсії, розраховані на один ступінь волі варіації.

Виправлена дисперсія для факторної дисперсії дорівнює:

$$\sigma_{\phi}^2 = \frac{D_{\phi}^2}{r-1},$$

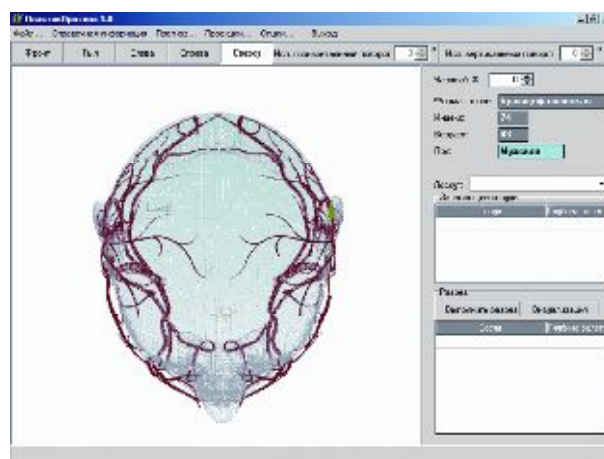
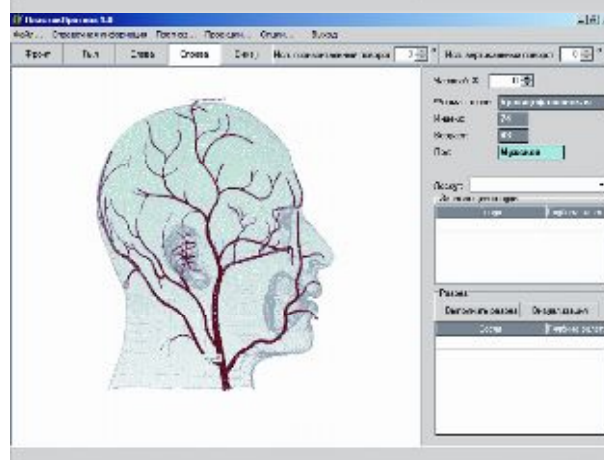
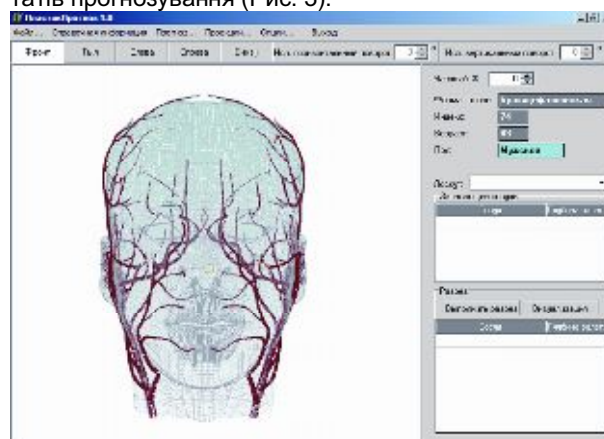
а для випадкової дисперсії:

$$\sigma_c^2 = \frac{D_c^2}{n-r}$$

де, n — число одиниць сукупності, r — число груп.
 Виходячи з цього обчислюється критерій Фішера:

$$F_{\text{факт}} = \frac{\sigma_{\phi}^2}{\sigma_c^2}.$$

На підставі проведених досліджень ми почали розробку програмного забезпечення для прогнозування залягання й анатомічної геометрії судин голови, актуальним моментом якого, є візуалізація результатів прогнозування (Рис. 3).



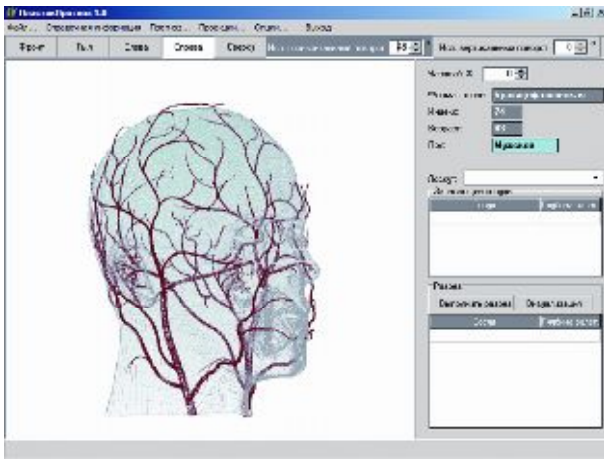


Рис. 3. Інтерфейси комп'ютерного моделювання.

У розроблювальному програмному забезпеченні відображення судин голови виконується шляхом промальовування ліній, у залежності від значень їх проєкції в лінійній системі координат.

Для визначення проходження цих ліній, кожна з них була розбита нами на три осьових складових: 1 і 2 — зовнішні границі проекцій, 3 — центральна вісь судини. Кожна з цих ліній може бути представлена у виді ірраціональної системи функцій, що мають поведінку на кожнім зі своїх відрізків. Для кожної судини була застосована своя лінійна система координат з початком відліку в підставі осьової лінії судини.

Для побудови розрахункових основних ліній знаходяться крапки перегинів, після чого вся лінія поділяється на дуги і виробляється вирахування кривизни. Виходячи зі значень кривизни отриманих дуг виробляється вирахування радіусів дуг, що дає можливість зробити промальовування стандартними програмними засобами.

Висновки:

Створена кореляційна комп'ютерна модель судинної системи зовнішньої сонної артерії за рахунок знання топографоанатомічних орієнтирів її гілок в

Summary

CORRELATIVE COMPUTER DOMINANT MODEL OF VASCULAR SYSTEM OF HEAD AND NECK AS WAY OF PERFECTION OF METHODS OF LEADTHROUGH OF RECONSTRUCTION AND PLASTIC TO OPERATION TO PATIENTS SLIPSHOD AND DEFORMATIONS CLOS OF MAXILLUFACIAL REGION

Avetikov D.S., Surovikin V.V., Fernebok O.V.

Key words: dominant model, external carotid artery, computer model, angiosom.

Work was devoted to development of correlative computer dominant model of the vascular system of pool of outward carotid and its branches, as feed-ins vessels of ариосомных shreds on a head and neck. For visualization of the built model the programmatic package of Pcad was used.

The created cross-correlation computer model of the vascular system of external carotid due to knowledge of topographic-anatomical points of its branches depending on the form of head simplifies the method of raising and mobilization of angiosom shreds of head and neck, that substantially abbreviates time of lead through of operation. For practical application by the surgeons of afore-mentioned software, the included possibility of addition of calculations information after prognostication in a standardization table will decrease the size of error during the lead through of prognostication in future.

**Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Ukrainian Medical Stomatological Academia,
Shevchenko Str., 23, Poltava, 36024**

залежності від форми голови спрощує методику підняття та мобілізації ангіосомних клаптів голови та шиї, що суттєво скорочує час проведення операції. Завдяки зменшенню часу операції післяопераційних ускладнень спостерігається на 25% менше.

Для практичного застосування хірургами вищезгаданого програмного забезпечення, включена можливість додавання розрахункових даних після прогнозування в стандартизаційну таблицю, що зменшить величину погіршності при проведенні прогнозування надалі.

Реалізована можливість завантаження даних стандартизаційних таблиць користувачами згаданого програмного забезпечення з всесвітньої мережі Internet.

Література

1. Вотрин А.В. Проекционная анатомия общей сонной артерии в месте ее деления // Тр.5 Всесоюзного съезда анатомов, гистологов и эмбриологов.- Ленинград, 1951. – С. 26-34.
2. Неробев А.И. Определение показаний к восстановительным операциям после удаления обширных злокачественных опухолей головы и шеи // Вопр. онкол. - 1983. - № 4. - С. 24-31.
3. Скрипников Н.С., Соколов В.Н., Шепитько В.И. Особенности топографии сосудов сложных аутоанастомозов для замещения дефектов тканей головы и шеи. // В сб.: Функциональная морфология сердечно-сосудистой и нервной системы в норме, патологии, эксперименте. – Ростов-на-Дону, 1991. – С. 25-29.
4. Орлов Г.А., Плюснина Л.М. К хирургической анатомии общей сонной артерии и основных ее ветвей // Хирургия. -1940. - № 2. - 78 с.
5. Anson B.J., Ed. Morris' Human Anatomy, 12th ed. // The Blakiston Division, McGraw-Hill Book Company, New York.- 1969. - P. 36 – 41.
6. Bergman R.A., Thompson, S.A., Afifi, A.K. and F.A. Saadeh. Compendium of Human Anatomic Variation: Catalog, Atlas and World Literature., Urban & Schwarzenberg, Baltimore and Munich. – 2002. – P. 44-47.
7. Wurtz, K.G. and N.B. Powell. Two unusual vascular and cardiac anomalies. I Vascular ring of the esophagus with patent ductus arteriosus. Origin of the left subclavian and carotid arteries. II Persistent atrioventricular communis and aortic dextroposition with mongolism. J. Pediatr. – 1998. - P. 213-219.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Ващук Н.А., Зайцева О.В., Жуков В.И., Телегин В.А., Резуненко Ю.К.
УДК 615.9:666.186

ВЛИЯНИЕ ОКСИЭТИЛИРОВАННОГО КСИЛИТА НА НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЙ ОБМЕН ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ПОДОСТРОГО ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Ващук Н.А., Зайцева О.В., Жуков В.И., Телегин В.А., Резуненко Ю.К.
Харьковский государственный медицинский университет, г. Харьков

Проведено дослідження нейромедіаторного статусу піддослідних щурів у процесі адаптації до тривалої (1,5 місяця) токсичної дії оксидетилірованого ксиліту марки Л-655-2-100, а також значення зсувів нейромедіаторного обміну для прогнозу станів попередпатології. Було встановлено, що ксенобіотик в дозах 1/10; 1/100 ДЛ₅₀ в головному мозку гальмує активність дофамін-, норадреналін- й адреналінергічної медіаторної системи, в печінці - навпаки, підвищує їх активність, а також призводить до активації серотонін- й ГАМК-ергічної медіаторної системи. Аналіз показників нейромедіаторного обміну в умовах токсифікації організму оксидетилірованим ксилітом Л-655-2-100 свідчить про специфічні відповіді різних нейромедіаторних систем, що направлені на мобілізацію відновних синтезів і забезпечення гомеостатичної функції.

Ключові слова: токсикологія, ксенобіотик, нейромедіаторний обмін, гомеостаз.

В настоящее время в условиях химизации окружающей среды интегральное изучение химического фактора с точки зрения общих закономерностей механизма действия на живой организм и зависимости доза (концентрация) – эффект является основной тенденцией развития современной токсикологии [5;7]. Появление новых синтезированных простых полиэфиров, имеющих широкое применение в различных отраслях народного хозяйства, ставит важную гигиеническую задачу своевременного и оперативного прогнозирования их потенциальной опасности для окружающей среды и здоровья человека. Раскрытие механизмов регуляции гомеостаза в условиях длительного воздействия соединениями из класса простых полиэфиров невозможно без исследования их влияния на нейромедіаторный обмен. Известно, что нейромедіаторы играют ведущую роль в структурно-метаболических процессах регуляции функции нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной, выделительной, пищеварительной, иммунной системы и др. [1;6;8]. Они являются важнейшими факторами обеспечения гомеостаза и тех нервных процессов, которые лежат в основе психологической и внешней нервной деятельности человека и животных [2]. Современные представления о патогенезе многих заболеваний не могут быть раскрыты без глубокого изучения обмена нейромедіаторов и их роли в этих структурно-метаболических процессах.

Целью работы явилось изучение нейромедіаторного статуса экспериментальных животных в процес-

се адаптации к длительному токсическому действию оксидетилірованного ксиліта марки Л-655-2-100, а также значения сдвигов нейромедіаторного обмена для прогнозирования состояний предпатологии.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 60 белых крысах-самцах популяции Вистар с исходной массой тела 0,18-0,21 кг. Контрольная и опытная группы состояли из 30 животных, которые содержались в однотипных условиях вивария на стандартном пищевом рационе. Животным опытной группы ежедневно (одноразово) в течение 1,5 месяца перорально с помощью металлического зонда вводились внутривентрикулярно водные растворы оксидетилірованного ксиліта марки Л-655-2-100 в дозах 1/10; 1/100; 1/1000 ДЛ₅₀ (ДЛ₅₀=32,9 г/кг массы животного). Оксидетилірованный ксилит марки Л-655-2-100 относится к простым полиэфирам, хорошо растворим в воде и органических растворителях, имеет молекулярную массу 650, содержит в структурной формуле гидрофильные группы и гидрофобные радикалы, которые обеспечивают ксенобіотику поверхностно-активные свойства [3]. На основании параметров токсичности относится к малотоксичным соединениям (4 класс опасности), не обладающим кумулятивными свойствами. Наличие особых физико-химических свойств привело к широкому использованию данного химического соединения при получении полимерных материалов, пластмасс, пенопластов, термопластов, эпоксидных смол, лаков, эмалей и др., что не исклю-

чает его вредного влияния на нейромедиаторные процессы.

По окончании эксперимента животные забивались декапитацией под легким эфирным наркозом, после чего изучались показатели нейромедиаторного обмена. Программа исследования предусматривала изучение обмена биогенных моноаминов и их предшественников в различных органах и тканях опытной и контрольной группы животных. В печени и головном мозге определялось содержание адреналина, норадреналина, ДОФА, дофамина, серотонина, триптофана, глутамата, гамма-аминомасляной (ГАМК) кислоты. В плазме крови оценивалось содержание тормозных нейромедиаторных аминокислот – глицина и таурина. Анализ биогенных моноаминов и их предшественников проводился по методу Y. Endo, Y.A. Oqura [11]. Для связывания биогенных моноаминов и их предшественников была использована карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) фирмы «Reanal», емкость 0,6 – 0,8 мэкв/г. Окисление катехоламинов и ДОФА производили методом G. Slabo et al. [12]. Определение уровней биогенных моноаминов и их предшественников осуществлялось на спектрофотометре фирмы «Хита-чи» МПР-4.

Содержание гамма-аминомасляной кислоты определялось общепринятым методом по E. Cornana et al. [10], а глутаминовой кислоты – по E. Bernt, H.U. Bergmeyer [9]. Уровни нейромедиаторных аминокислот глицина, таурина исследовались методом ионо-

бменной хроматографии на автоматическом анализаторе аминокислот Т-339 (Чехословакия) [4]. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием пакета программ “STATISTICA 6.0 Windows”. Достоверность отличий оценивали по критерию Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$. Экспериментальные исследования на животных выполнялись в соответствии с “Международными рекомендациями проведения биомедицинских исследований с использованием животных” (1985), а также национальными “Общими этическими принципами экспериментов на животных” (Украина, 2001).

Результаты и их обсуждение

В результате изучения нейромедиаторной системы катехоламинов и их предшественников в головном мозге и печени выявлены нарушения содержания этих субстратов в опытной группе по сравнению с контролем (табл. 1). Так, в головном мозге экспериментальных животных установлено повышение содержания ДОФА в 1,81 раза и снижение дофамина, норадреналина и адреналина соответственно в 2,01; 1,84 и 4,57 раза. Иная направленность метаболизма катехоламинов и их предшественников наблюдалась в печени, где уровень ДОФА снижался в 1,76 раза на фоне увеличения концентрации дофамина, норадреналина и адреналина соответственно в 1,95; 1,68 и 1,68 раза (рис. 1).

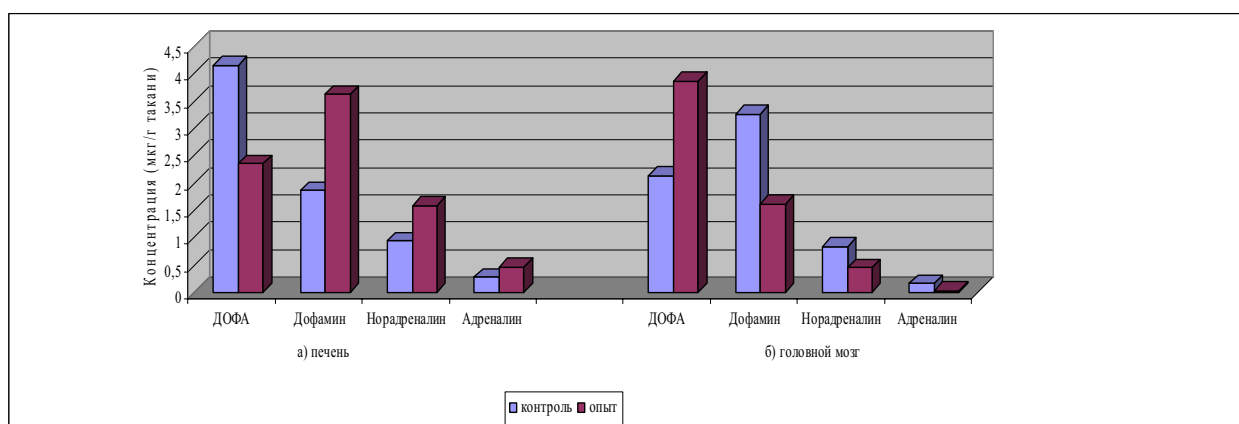


Рис.1 Динамика содержания биогенных моноаминов в печени и головном мозге при воздействии оксигенированного ксилита марки Л-655-2-100 в дозе 1/100 ДЛ₅₀.

Эти данные, во-первых, могут свидетельствовать о том, что оксигенированный ксилит Л-655-2-100 в головном мозге ингибирует структурно-метаболические процессы, которые сопряжены с синтезом катехоламинов и их предшественников. С другой стороны, снижение их содержания может быть связано с механизмами усиления процессов обезвреживания биогенных моноаминов, после реализации ими своих физиологических функций моноаминоксидазой [4;6]. Повышение содержания катехоламинов в печени, по-видимому, является результатом усиления синтеза и снижения скорости их окислительного деаминации. Как в одном, так и во вто-

ром случае наблюдаются глубокие нарушения метаболизма нейромедиаторной системы катехоламинов, что свидетельствует о влиянии Л-655-2-100 на механизмы формирования множественных патологических процессов и состояний в условиях подострого токсикологического воздействия. Недействующей являлась доза 1/1000 ДЛ₅₀.

Исследование серотонинэргической медиаторной системы выявило снижение содержания триптофана в печени и головном мозге в 1,91 и 2,58 раза и, соответственно, повышение в этих органах содержания серотонина в 1,99 и 1,71 раза (табл. 1).

Таблица 1

Влияние оксиэтилированного ксилита марки Л-655-2-100 в дозе 1/100 ДЛ₅₀ на биогенные моноамины и их предшественники

Показатели (мкг/г ткани)	Органы, (M±m), группа животных			
	Контроль (n=30)		Опыт (n=30)	
	печень	головной мозг	Печень	головной мозг
ДОФА	4,15±0,32	2,14±0,11	2,35±0,19*	3,87±0,24*
Дофамин	1,86±0,17	3,26±0,18	3,62±0,24*	1,62±0,15*
Норадреналин	0,94±0,12	0,83±0,07	1,58±0,16*	0,45±0,06*
Адреналин	0,28±0,03	0,16±0,002	0,47±0,04*	0,035±0,0012*
Триптофан	13,75±0,94	5,90±0,46	7,20±0,36*	2,28±0,87*
Серотонин	3,12±0,32	2,43±0,38	6,23±0,58*	4,15±0,13*

Примечание: * - различия с контролем достоверные, $p < 0,05$

Анализ состояния адреналинэргической системы свидетельствовал о ее ингибировании на фоне существенной активации серотонинэргической системы, что указывает на снижение эрготропной и повышение, соответственно, трофотропной функции организма при действии оксиэтилированного ксилита. В этих условиях представляло значительный интерес исследование метаболизма нейромедиаторов, обеспе-

чивающих эффекты торможения и возбуждения, что имеет большую роль в процессах адаптации организма. Результаты исследований выявили существенную активацию нейромедиаторной системы ГАМК-глутамат (табл. 2), причем для печени характерным являлось повышение как уровня глутамата в 2,43 раза, так и ГАМК в 2,84 раза.

Таблица 2

Состояние глутамат-ГАМК-эргической системы под влиянием оксиэтилированного ксилита марки Л-655-2-100 в дозе 1/100 ДЛ₅₀

Показатели (мкг/г ткани)	Органы, (M±m), группа животных			
	Контроль (n=30)		Опыт (n=30)	
	печень	головной мозг	печень	головной мозг
Глутамат	0,76±0,08	2,30±0,14	1,85±0,16*	1,48±0,05*
ГАМК	22,63±1,74	22,60±1,25	64,27±2,53*	78,52±2,67*

Примечание: * - различия с контролем достоверные, $p < 0,05$

В головном мозге наблюдалось снижение уровня глутамата в 1,55 раза и увеличение содержания ГАМК в 3,47 раза (рис.2).

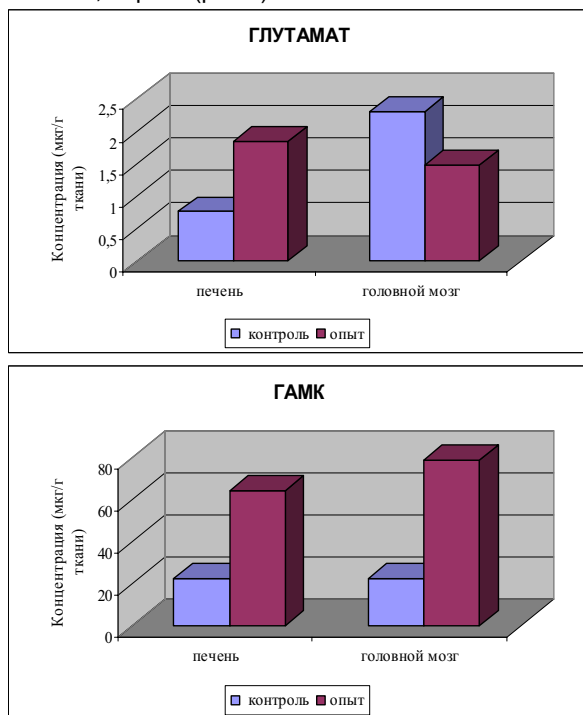


Рис.2 Динамика показателей глутамат-ГАМК-эргической системы под воздействием оксиэтилированного ксилита марки Л-655-2-100 в дозе 1/100 ДЛ₅₀.

Поскольку глутамат и ГАМК связаны между собой как единая метаболическая система, мы рассчитали соотношение в головном мозге коэффициента $K = \frac{\text{содержание ГАМК}}{\text{содержание глутамат}}$. В контроле $K = 9,83$ у опытных животных этот показатель был существенно выше $K = 53,05$, что указывает на преобладание тормозных процессов над возбуждением у животных, которые подвергались воздействию оксиэтилированным ксилитом.

Как видно из полученных результатов, в условиях адаптации белых крыс к токсическому влиянию испытуемого химического соединения происходит активация серотонин- и ГАМК-эргической медиаторных систем, функционирование которых направлено на обеспечение гомеостатической функции организма. Исследование концентрации тормозных нейромедиаторных аминокислот плазмы крови глицерина и таурина выявило снижение уровня глицерина ($p < 0,05$) без изменения содержания таурина. Этот может быть связано с усилением процессов вовлечения глицерина в метаболические схемы, связанные с протеосинтезом некоторых видов белков, которые усиленно подвергаются протеолизу в условиях токсификации организма.

Таким образом, результаты работы позволили сделать следующие выводы:

1. В условиях подострого опыта оксиэтилированный ксилит марки Л-655-2-100 в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀ в головном мозге ингибирует активность дофамин-, норадреналин- и адреналинэргической медиаторных систем, в печени – наоборот, повышает их активность.

2. Л-655-2-100 в исследованных дозах приводит к активации серотонин- и ГАМК- эргической медиаторной системы. Динамика показателей нейромедиаторного обмена свидетельствует о специфической реакции различных нейромедиаторных систем, направленных на мобилизацию восстановительных синтезов и обеспечение гомеостатической функции в условиях токсификации организма.

Литература

1. Андреев С.В., Кобкова И.Д. Роль катехоламинов в здоровом и больном организме. – Москва: Медицина, 1970. -295 с.
2. Денисов В.М., Рукавишников С.М., Жуков В.И. Биохимия миокарда, поврежденного адреналином. - Харьков: РИП «Оригинал», 1999. -183 с.
3. Жуков В.И., Попова Л.Ф., Зайцева О.В. и соавт. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов. –Харьков: Торнадо, 2000. - 437 с.
4. Зорькин А.А., Курцер Б.М., Довганский А.Н. Динамика сдвигов свободных аминокислот и кортикостерона в тканях печени и миокарда крыс при комбинированной ожогово-лучевой травме // Метаболические процессы при некоторых экстремальных состояниях. –Кишинев: Штианца, 1985. –с. 3-24.
5. Курляндский Б.А., Медицинские проблемы химической безопасности России в аспекте современных междисциплинарных тенденций // Современные проблемы токсикологии. -2002. -№3. –С.31-34.
6. Мецлер Д. Биохимия. Москва: Мир, 1980. - с. 324-352.
7. Рахманин Ю.А., Ревазова Ю.А. Донозологическая диагностика в проблеме окружающей среда – здоровье населения // Гигиена и санитария. -2004. -№6. – С.3-5.
8. Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Сокол К.М. и соавт. Структурно-метаболические механизмы формирования атеросклероза. –Белгород, * Белвитаин, 2001. -523 с.
9. Bernt E., Bergmeyer H.U. Methoden der enzymatischen analyse. –Berlin, 1970. –Bd.3 –S.1659-1665.
10. Cormana E., Vomes C., Trolin V. Purification of GABA on small columns of Dowex 50 W: Combination with a Method for Separation of Biogenic Amines // Acta Pharm. et toxic. -1980. -№46. –P.235-240.
11. Endo Y., Ogura Y. A. Rapid and simple determination of histamine and poliamines // Japan J. Pharmacol. -1975. - №25. –P.610-612.
12. Slabo G., Kovacs G.L., Telegdy G. A modified screening method for rapid simultaneous determination of dopamine, noradrenalin and serotonin in the same brain region // Acta Physiol. -1983. - Vol.61, № 1-2. –P.51-57.

Summary

EFFECT OF OXYETHILIC CSYLIT ON NEUROTRANSMITTER METABOLISM IN TEST ANIMALS UNDER SUBACUTE TOXICOLOGIC EXPERIMENT

Vaschuk N.A., Zaytseva O.V., Zhukov V.I., Telegin V.A., Rezunenکو Yu.K.

Key words: toxicology, xenobiotic, neurotransmitter metabolism, homeostasis.

It was investigated neurotransmitter status in test rats in the process of adaptation to long-lasting (1.5 month) toxic effect of oxyethyllic csylit L-655-2-100 and significance of neurotransmitter metabolism shifts in prognosis for prepathologic states. It was established xenobiotic in doses 1/10; 1/100 LD₅₀ in brain inhibits activity of dopamin-, norepinephrine-, and epinephrine-ergic transmitter system, in liver - on the contrary it increases its activity, it also leads to promotion of serotonin- and GAMAc-ergic transmitter system. Assay of neurotransmitter metabolism indices under toxic effect of L-655-2-100 on organism indicates to specific responses of different neurotransmitter systems direct to mobilization of reduced syntheses and supply of homeostatic function.

**Ukrainian Ministry of the Health Public Service,
Kharkiv State Medical University**

Матеріал надійшов до редакції 23.05.06.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТЕРАПІЯ РОЗИГЛІТАЗОНОМ ПРИ ІНДУКЦІЇ АЛОКСАНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТА

Кайдашев І.П., Куценко Л.О., Боброва Н.О., Куценко Н.Л., Беркало Л.В., Кайдашева Е.І.

Центральна науково-дослідна лабораторія

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В генезе многих заболеваний, в том числе, сахарного диабета, большую роль играет нарушение апоптоза, его активация или угнетение. Проведены исследования изменений процессов апоптоза Т клеток в суспензии спленоцитов на модели алоксанового диабета под влиянием препарата розиглитазон для углубления представлений о патогенезе сахарного диабета. Показано, что у животных с экспериментальным инсулинзависимым сахарным диабетом наблюдается тенденция к снижению CD4⁺ и CD8⁺ Т клеток суспензии спленоцитов с более выраженными изменениями CD8⁺ Т лимфоцитов. Выявлена способность препарата розиглитазон угнетать процесс апоптоза Т лимфоцитов.

Ключевые слова: апоптоз, алоксановый диабет, розиглитазон, спленоциты.

На сьогоднішній день в лікуванні цукрового діабету II типу використовуються декілька основних груп цукрознижуючих препаратів. Група тіазолідіндіонів, до якої належить розиглітазон – це новий клас антидіабетичних препаратів, механізм їх дії реалізується через ядерні гормональні рецептори PPAR-γ (рецептор, активуючий проліферацію пероксисом) [1,2]. Зв'язування препарату з PPAR-γ вибірково активує транскрипцію генів в клітинах-мішенях і як наслідок цього, впливає на експресію генів PEPCK, GLUT, ліпопротеїнази і TNFb, які відіграють важливу роль в патогенезі цукрового діабету [3].

В генезі багатьох захворювань, в тому числі, цукрового діабету, велику роль відіграє порушення апоптозу, його активація або пригнічення [4,5]. Концепція апоптозу являється одним з найбільш фундаментальних та перспективних узагальнень сучасної медикобіологічної науки. В даний момент не викликає сумніву, що апоптоз це фундаментальна генетична програма, яка забезпечує фізіологічне співвідношення таких процесів, як проліферація, диференціювання або перебування клітин в спокійному стані. Програмована клітинна загибель забезпечує рівновагу клітин в тканинах, відмирання непотрібних утворень в ембріогенезі, підтримує генетичну стабільність організму за рахунок самознищення генетично ушкоджених клітин. Порушення гомеостазу організму при багатьох патологіях, в тому числі імунопатологічних реакціях, зв'язано з пригніченням або підсиленням апоптозу.

Отримані нові дані про важливу роль апоптозу острівцевих клітин в патогенезі цукрового діабету [17]. Важливу роль в цьому питанні відіграють моноцитарні клітини.

Метою роботи стало вивчення впливу розиглітазону на апоптоз спленоцитів при експериментальному цукровому діабеті.

Матеріали та методи

Досліди виконувались на 24 білих мишах лінії BALB/c, однакової ваги. Лабораторні тварини утримувались в умовах віварію на типовому раціоні годування. Всі маніпуляції з тваринами проводились за дозволом біоетичної комісії УМСА.

Дослідні тварини були розділені на групи: I група – інтактні тварини;

II група – контрольна – введення одноразово підшкірно алоксану в дозі 150 мг/кг. На 10 добу у тварин визначали рівень глюкози в крові при допомозі фотометра "Глюкофот", використовуючи індикаторні стрічки "Гемоглан".

III група – дослідна – одноразове підшкірне введення алоксану, (тварини з підвищеним вмістом глюкози в крові), пероральне введення тваринам спирту етилового по 0,05 мл 1 раз на добу протягом 6 тижнів; IV група – дослідна – одноразове підшкірне введення алоксану (тварини, з підвищеним вмістом глюкози в крові) пероральне введення 0,05 мл спиртового розчину розиглітазону (авандія, Smith Kline Beecham Pharmaceuticals, Великобританія), в дозі 10 мг/кг 1 раз на добу протягом 6 тижнів [6].

Алоксановий діабет моделювали одноразовим підшкірним введенням 5% розчину алоксану фірми "Хемапол" в дозі 150 мг/кг маси тіла [7].

Вміст глюкози, холестерину, тригліцеридів в сироватці крові визначали за допомогою наборів "Оксохром глюкоза С", "Холестерин", "Тригліцериди" ("Lachema a.s.", Чехія). Вимірювання проводили на мікроколориметрі МКМФ-1 в кюветі з товщиною шару 1,0 см при відповідних довжинах хвиль.

Для визначення субпопуляцій Т лімфоцитів та рівня апоптозу Т клітин отримували суспензію спленоцитів, виділених в асептичних умовах загальновідомим методом [8].

При цьому, для визначення фенотипу лімфоцитів були використані моноклональні антитіла до поверхневих антигенів CD4 та CD8 мічені флюорисцеїнізотіоціанатом (Caltag, США).

Оцінку апоптозу визначали за рівнем гіподиплоїдії Т клітин, обробляючи попередньо фіксовані клітини пропідіумом йодидом [9].

Рівень апоптозу та фенотип лімфоцитів визначали на проточному цитофлюориметрі EPIX LX – MCL (Beckman Coulter, USA), використовуючи програму System II™ software. Для збудження флюорисценції використовували аргонний лазер з довжиною хвилі 488 нм. Додатково до флюорисцентних параметрів

проводили реєстрацію прямого та бокового світорозсіювання клітини, що дозволило виключати з аналізу конгломерати клітин та їх уламки. Підрахунок клітин проводили протягом 300 с при цьому кількість проаналізованих клітин в пробі складала від 15 до 20 тисяч.

Статистичну обробку математичних результатів експерименту проводили використовуючи стандартну програму STATISTICA з обчисленням середньої арифметичної (M), середньоквадратичного відхилення

(m), вірогідності отриманих результатів Т-тестом для попарно зв'язаних та для незалежних величин (t).

Результати та їх обговорення

Літературні дані показують, що алоксановий діабет у тварин викликає тяжку форму цукрового діабету з характерно вираженою гіперглікемією [10]. Наші дослідження показали, що на 10 добу індукції алоксанового діабету спостерігались виражені зміни вуглеводного обміну, про що свідчить вірогідне зростання вмісту глюкози в крові експериментальних тварин (табл.1).

Таблиця 1

Вплив препарату розиглітазон на вуглеводний та ліпідний обмін дослідних тварин при індукції цукрового діабету (M±m)

Показники, які вивчались	Інтактна група n = 6	Тварини з алоксановим діабетом		
		Контрольна група - алоксановий діабет, n = 6	Дослідна група – введення спирту по 0,05 мл, n = 6	Дослідна група - введення препарату розиглітазон в дозі 10 мг/кг, n = 6
Глюкоза, ммоль/л	5,80 ± 0,53	10,00 ± 0,54*	9,46 ± 0,30*	8,06 ± 0,88*#
Холестерин, ммоль/л	2,65 ± 0,37	2,61 ± 0,41	2,60 ± 0,66	2,65 ± 0,43
Тригліцериди, ммоль/л	1,25 ± 0,09	1,30 ± 0,18	1,38 ± 0,07	1,36 ± 0,09

Примітка: * порівняння показників з інтактною групою (p < 0,05);
порівняння показників з контрольною групою (p < 0,05).

Введення препарату розиглітазон на тлі експериментального діабету сприяло вірогідному зниженню вмісту глюкози в сироватці крові досліджених тварин в порівнянні з контрольною групою (8,06 ± 0,88 проти 10,00 ± 0,54 ммоль/л). У групі тварин з алоксановим діабетом, яким вводили спирт етиловий вміст глюкози залишався без значних змін.

Дослідження рівня холестерину та тригліцеридів вказало, що введення препарату розиглітазон не вплинуло на ліпідний обмін в організмі дослідних тварин.

Отримані нами експериментальні дані корекції вуглеводного обміну під впливом розиглітазону у тварин з алоксановим діабетом узгоджуються з літературними даними, які свідчать про гіпоглікемічну дію препарату [6].

Таким чином, відтворена нами на білих мишах лінії BALB/c модель алоксанового діабету характеризувалась підвищенням вмістом глюкози в сироватці крові та не супроводжувалась порушенням ліпідного обміну. Пероральне ведення препарату розиглітазон, який є високоселективним агоністом лігандактивуючих ядерних гормональних рецепторів, відігравав важливу

роль в метаболізмі вуглеводів та жирів, викликаючи пониження рівня глюкози.

Результатом активації Т лімфоцитів є не тільки проліферація клітин але і їх апоптоз [11]. Очевидно, що слідством нерівномірного вступу в апоптоз активованих Т клітин, які відносяться до різних субпопуляцій, є різниця співвідношення CD4+ та CD8+ клітин у фракції Т лімфоцитів, що приймають участь в імунній відповіді. Фізіологічна роль такої зміни рівноваги субпопуляцій Т клітин до кінця не визначена [12,13].

Тому, актуальним на наш погляд стало вивчення змін рівня основних субпопуляцій Т лімфоцитів (CD4+, CD8+ Т клітин) в суспензії спленоцитів у тварин з експериментальним інсулінзалежним цукровим діабетом [I3ЦД] під впливом препарату розиглітазон.

Отже, результати отриманих даних свідчать, що у тварин з I3ЦД спостерігається тенденція до зниження CD4+ та CD8+ Т клітин суспензії спленоцитів з більш вираженими змінами CD8+ Т лімфоцитів. При цьому на фоні введення препарату розиглітазон тваринам дослідної групи викликало вірогідне зниження CD8+ Т лімфоцитів, що супроводжувалось зростанням в 1,5 раза співвідношення CD4+/CD8+ Т клітин суспензії спленоцитів (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив препарату розиглітазон на процеси апоптозу та загальну кількість CD4+, CD8+ Т лімфоцитів дослідних тварин при індукції цукрового діабету (M±m)

Показники, які вивчались	Інтактна група	Тварини з алоксановим діабетом		
		Контрольна група - алоксановий діабет, n = 6	Дослідна група - введення спирту по 0,05 мл, n = 6	Дослідна група - введення препарату розиглітазон в дозі 10 мг/кг, n = 6
CD4+, %	28,88 ± 3,72	27,54 ± 1,59	27,47 ± 5,14	27,24 ± 2,91
CD8+, %	41,58 ± 7,85	36,40 ± 7,08	32,37 ± 3,70	25,54 ± 5,46 #
Співвідношення CD4/CD8	0,69	0,76	0,85	1,07
Гіподип-лоїдні клітини, %	0,98 ± 0,21	0,24 ± 0,08*	0,17 ± 0,06*	0,15 ± 0,04 * #

Примітка: * порівняння показників з інтактною групою (p < 0,05);
порівняння показників з контрольною групою (p < 0,05).

Таким чином, препарат розиглітазон у тварин з ІЗЦД викликає зменшення кількості CD8⁺ Т клітин суспензії спленоцитів, змінюючи рівень співвідношення CD4⁺/CD8⁺ Т клітин.

Відомий той факт, що баланс між популяціями клітин залежить від процесів проліферації та апоптозу. Неодноразово було показано, що одним із патогенетичних механізмів розвитку алергічних, аутоімунних, інфекційних захворювань є порушення процесів апоптозу серед різних популяцій лімфоцитів [14, 15, 16].

Результати, які представлені в табл. 2 свідчать про те, що під час індукції цукрового діабету у експериментальних тварин спостерігалось зменшення рівня апоптозу Т лімфоцитів суспензії спленоцитів. Під час введення препарату розиглітазон тваринам дослідної групи спостерігалась тенденція до зниження кількості клітин спленоцитів, що знаходяться в апоптозі.

Таким чином, незважаючи на пригнічення процесів апоптозу Т лімфоцитів при індукції аллоксанового діабету, розиглітазон продовжує пригнічувати даний процес.

Отже, в процесі імунної відповіді здійснюється корекція співвідношення функціональних субкласів Т клітин і в якості інструменту цієї корекції використовується нерівномірність залучення CD4⁺ та CD8⁺ Т клітин в проліферації та апоптозі.

Література

1. Activation provides enhanced improvement of insulin sensitivity and glycemic control in ZDF rats/ C. L. Brand, J. Sturis, C.F. Godfredsen et al. // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* - 2003. - Vol.284. - P. 841-854.
2. Rosiglitazone, a ligand of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, reduces the development of nonseptic shock induced by zymosan in mice/ S. Cuzzocrea, B. Pisano, L. Dugo et al.// *Medline.* - 2004. - Vol.32. - P. 457-466.
3. Lupi R., Del Guerra S., Marselli L. Rosiglitazone prevents the impairment of human islet function induced by fatty acids: evidence for a role of PPARγ in the modulation of insulin secretion// *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* - 2004. - Vol. - 286. - P. 560-567.
4. Кайдашев І.П., Беркало Л.В., Боброва Н.А., Рябенко В.В. / Антиапоптотическое действие пептидного комплекса поджелудочной железы при аллоксановом диабете // *Ліки.* - 2003. №10. - С.75-77.
5. Панфилова Т.В., Штиль А.А., Полосухина Е.Р. и др. / Влияние тритерпеноида милиацина на чувствительность лимфоцитов тимуса и селезенки к апоптозу индуцированному дексаметазоном // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* - 2003. - Т. 136. №10. - С.382-385.
6. β-Cell Mass Dynamics in Zucker Diabetic Fatty Rats / Diane T. Finegood, M. Dawn McArthur, David Kojwang et al. // *Diabetes.* - Vol. 50. - P. 1021-1029.
7. Ефимов А.С., Гордиенко В.М., Ткачук Ю.В. Экспериментальное моделирование диабетических ангиопатий // *Физиологический журнал.* - 1981. - № 1. - С.88-94.
8. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. і др.; Під ред. Кайдашева І.П. - Полтава: Полімед, 2003. - 320 с.
9. Use of a cytometric assay to quantitate apoptosis in human lymphocytes / T. McCloskey, N. Oyaizu, M. Coronese et al. // *Clin. Immunol. Immunopathol.* - 1994. -Vol.71. -P. 14-18.
10. Древаль А.В., Садикова Р.Е., Мазо В.К. Влияние несбалансированности пищевого рациона на индуцирование и течение аллоксанового сахарного диабета у крыс // *Проблемы эндокринологии.* - 1991. - Т.37, № 6. - С. 56-58.
11. Никонова М.Ф., Литвина М.М., Варфоломеева М.И. и др. Апоптоз и пролиферация как альтернативные формы ответа Т-лимфоцитов на стимуляцию // *Иммунология.* - 1999. - № 2. - С. 20-23.
12. Григорьева Т.Ю., Никонова М.Ф., Ярилин А.А. Различная чувствительность к индукции апоптоза Т лимфоцитов субклассов CD4⁺ и CD8⁺ // *Иммунология.* - 2002. - №4. - С. 200-205.
13. Григорьева Т.Ю., Никонова М.Ф., Варфоломеева М.И. и др. Неравномерное вовлечение в активационный апоптоз Т-лимфоцитов субклассов CD4⁺ и CD8⁺ и высокая чувствительность к нему CD30⁺ -клеток крови здоровых лиц и больных с иммунопатологией // *Иммунология.* - 2002. - № 5. - С. 262-267.
14. Минеев В.Н., Нестерович И.И., Оранская Е.С., Тафеев А.Л. / Апоптоз и активность рибосомальных цистронов клеток периферической крови при бронхиальной астме // *Аллергология.* - 2003. - №1. - С.15-19.
15. Зигангирова Н.А., Гинцбург А.Л. / Роль апоптоза в регуляции инфекционного процесса // *Журн. Микробиол.* - 2004, №6. - С.106-113.
16. Alexandra E., Butler, Janson J. et al. / T-cell deficit and increased T-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes // *Diabetes.* - 2003. - Vol.52. - P. 102-110. 17. Фізіологічна активність пептидного екстракту підшлункової залози / Під ред. Кайдашева І.П. - 2005. Полімет. - 119 с.

Summary

THE EXPERIMENTAL THERAPY BY ROSIGLITAZONE OF INDUCTION OF ALLOXCAN DIABETES

Kaidashev I.P., Kutsenko L.O., Bobrova N.O., Kutsenko N.L., Berkalo L.V., Kaidasheva E.I.

Key words: apoptosis, alloxcan diabets, rosiglitazone, splenocytes.

Many pathological processes, including diabetes, are associated with activation or suppression of apoptosis T cells.

The influence of rosiglitazone on apoptosis Tcells in suspension of splenocytes by alloxcan diabets was studied for the assessment of the role of rosiglitazone-modulated apoptosis Tcells in the pathogenesis of diabetes.

It was suggested decrease the amount of CD4⁺ and CD8⁺ T cells with most significant difference of CD8⁺ cells in animals by alloxcan diabets.

The administration of rosiglitazone led to the inhibition of apoptosis T lymphocytes.

Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Ukrainian Medical Stomatological Academia, Shevchenko Str., 23, Poltava, 36024

Матеріал надійшов до редакції 19.06.06.

© ¹Курченко А.И., ²Фесенкова В.И., ¹Дранник Г.Н.

УДК 616.64-002:579.882.11:615.281; 615.36:616-006-08 + 616-097-08

УРОВЕНЬ СЫВОРОТОЧНЫХ ЦИТОКИНОВ (IL- 2, IL-10, IL-12,IL-18) У БОЛЬНЫХ IGE-ЗАВИСИМОЙ И IGE-НЕЗАВИСИМОЙ ФОРМОЙ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА**¹Курченко А.И., ²Фесенкова В.И., ¹Дранник Г.Н.**¹Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, г. Киев²Институт урологии АМН Украины

Перехресний вплив деяких цитокінів на співвідношення між TH1 и TH2 лімфоцитами в умовах атопічного дерматиту залишається до теперішнього часу до кінця не з'ясованим. Ми досліджували рівні сироваткових цитокінів (IL-2I, L-10I, L-12, IL-18) у хворих з IgE-залежною і IgE-незалежною формою АД. Як виявилось, у хворих на IgE-залежну форму АД, на відміну від IgE-незалежної форми, спостерігається достовірне збільшення рівня IL-18 в сироватці крові. Знайдене збільшення рівня IL-18 в крові хворих на IgE-залежну форми АД за умови пониженої концентрації IL-12 може служити важливим критерієм для диференціальної діагностики різних форм АД.

Ключові слова: атопічний дерматит, цитокіни, інтерлейкін.

Атопический дерматит (АД) представляет собой хроническое рецидивирующее аллергическое заболевание кожи с характерной клинической картиной. Как известно, несмотря на однородность клинических признаков заболевания, атопический дерматит имеет как минимум две описанные патогенетически различные формы. Это аллергическая IgE-зависимая форма, которая развивается на фоне присутствия в крови высокого уровня общего и аллергенспецифического IgE и так называемая IgE-независимая форма, в патогенезе которой отсутствует четкий механизм развития гиперчувствительности немедленного типа [4,8].

Известно, что высокий уровень эозинофилии, сопровождаемый гиперпродукцией IgE, наблюдается у большинства пациентов с клиническим диагнозом АД и является основным лабораторным иммунологическим критерием этого заболевания. Однако, клинические проявления АД могут наблюдаться у пациентов при отсутствии этих выраженных иммунологических лабораторных изменений. Чаще всего такая ситуация встречается у больных с IgE-независимой (неаллергической) формой атопического дерматита [9].

Дальнейший поиск критериев, позволяющих дифференцировать различные формы АД, наталкивает исследователей на раскрытие новых патогенетических механизмов формирования заболевания, как на уровне периферической крови, так и на уровне пораженной кожи больных. Одним из таких критериев может служить различный уровень цитокинов наблюдаемый в сыворотке крови больных IgE-зависимой и IgE-независимой формой АД [6].

Как известно, существуют большие различия в сывороточной концентрации цитокинов вырабатываемых лимфоцитами Th1 и Th2 профиля в крови больных АД при обострении и хроническом течении заболевания. По мнению многих авторов, обострение АД чаще всего связано с усиленным синтезом IL-4, 5 и IL-10, а хронический процесс наоборот чаще характеризуется увеличением продукции IFN- γ [3].

Однако, при сравнении показателей Th1 и Th2 цитокинового профиля периферической крови у больных с IgE-зависимой и IgE-независимой формой АД выявленных различий оказалось недостаточно.

Некоторый прогресс в понимании этого вопроса наметился после последних сообщений о патогенетической роли IL-12 и IL-18 в формировании и разви-

тии атопических состояний. Открытие и описание механизмов действия IL-18 in vitro и in vivo у лабораторных животных позволяет судить о ключевом участии этого цитокина в формировании кожной аллергической реакции у больных АД [10]. Было отмечено, что уровень IL-18 может коррелировать с уровнем эозинофилии и концентрацией растворимого рецептора IL-2 (sIL-2R) в сыворотке крови [5].

Интерес к IL-18 возник после сообщения о том, что этот цитокин обладает способностью в содружестве с IL-12 индуцировать синтез IFN- γ [7]. Как известно, IL-12 способствует дифференцировке Т-лимфоцитов из Th0 в Th1, стимулирует продукцию IFN- γ и усиливает экспрессию рецептора к IL-18 на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах и натуральных киллерах (NK). Однако, IL-18 в содружестве с IL-2, может также способствовать синтезу Th2 цитокинов и увеличению продукции IgE [2,10]. Аналогичная взаимосвязь наблюдается при синергизме IL-2 и IL-12. Известно, что IL-2 может индуцировать продукцию IFN- γ и уменьшать IL-4- индуцируемую продукцию IgE. В то же время IL-2 способен индуцировать продукцию IL-10, который вместе с IL-12 снижает синтез γ -INF [10]. Несмотря на то, что такие перекрестно-реагирующие реакции Th1/Th2 синтеза цитокинов хорошо описаны, остается неясным, как вышеописанные цитокины ведут себя при различных патологических состояниях. Дальнейшее исследование цитокинового профиля крови больных АД может быть полезным для оценки вариантов течения и тяжести этого заболевания.

Целью исследования явилось изучение уровня сывороточных IL-2, IL-10, IL-12 и IL-18 у больных различными формам АД для поиска дополнительных иммунологических дифференциальных критериев IgE-зависимой и IgE-независимой формы заболевания.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находились исключительно взрослые пациенты (65 человек в возрасте от 18 до 55 лет) с клиническими проявлениями АД. В первую группу вошли 33 человека IgE-зависимой формой АД, диагноз которых отвечал критериям, предложенным Hanifin & Rajka. Эти пациенты указывали на проявления атопических заболеваний у родственников в анамнезе и обнаруживали высокие

уровни концентрации общего IgE в сыворотке крови. Вторую группу составили 32 человека с IgE-независимой формой АД, диагноз которых также отвечал критериям, предложенным Hanifin & Rajka, но не имеющих atopического анамнеза и повышенного уровня общего сывороточного IgE. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров.

Уровень сывороточных цитокинов (IL-2, IL-10, IL-12, IL-18) определяли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Для определения концентрации цитокинов использовали коммерческие наборы тест-систем фирм "IMMUNOTECH" и "DIACLONE", Франция.

В 96-луночные планшеты добавляли по 100 мкл «нулевой дозы» и стандартов M4 в соответствующие лунки для построения стандартной кривой. В остальные лунки добавляли по 50 мкл исследуемой сыворотки. Затем в каждую лунку вносили по 25 мкл кроличьих поликлональных антител. Планшеты инкубировали при комнатной температуре на протяжении 3 часов. Лунки 5 раз тщательно промывали буферным раствором и удаляли остатки промывающей жидкости. После промывания в каждую лунку добавляли по 50 мкл конъюгата кроличьих антител и щелочной фосфатазы. Инкубацию проводили при комнатной температуре на протяжении 45 минут. Повторяли промывание планшеты пять раз и вносили в каждую лунку по 200 мкл приготовленного хромогенного агента. После последней 20-минутной инкубации проводили определение оптической плотности стандартов и исследуемых образцов сыворотки при помощи иммуноферментного анализатора STAT-FAX-303 PLUS, США при длине волны в 492 нанометра. Полученные количественные результаты статистически обрабатывались стандартной компьютерной программой Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования уровня сывороточных цитокинов (IL-2, IL-10, IL-12, IL-18) у больных IgE-зависимой и IgE-независимой формой АД представлены на рисунке 1.

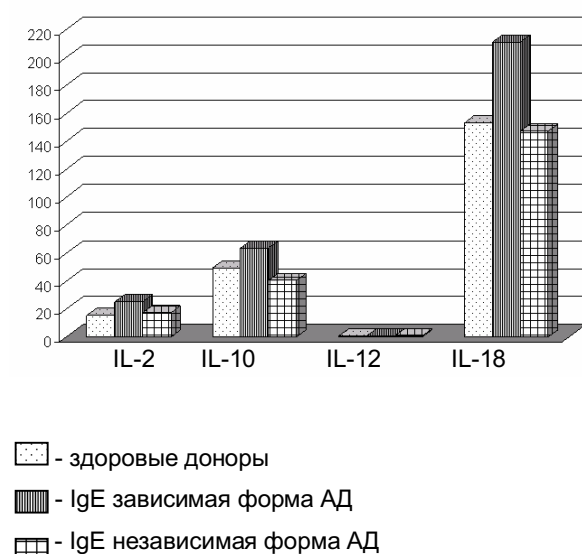


Рис. 1. Сравнительная характеристика уровня цитокинов в сыворотке крови больных IgE зависимой и IgE независимой формой АД.

Как видно из рисунка, у больных с IgE-формой АД наблюдается резкое увеличение концентрации IL-18 в сыворотке периферической крови ($211,3 \pm 4,6$ пкг/мл), по сравнению с показателями в группе больных IgE-независимой формой АД ($147,4 \pm 5,2$ пкг/мл) ($p < 0,05$) и нормальных доноров ($153 \pm 2,5$ пкг/мл) ($p < 0,05$). При этом у больных IgE-зависимой формой АД наблюдалось увеличение показателя концентрации IL-2 ($25,1 \pm 1,5$ пкг/мл) и IL-10 ($63,7 \pm 4,1$ пкг/мл) в сыворотке крови. Уровень концентрации IL-12 был достоверно снижен и составил 0,1 пкг/мл.

При исследовании уровня сывороточных цитокинов у больных IgE-независимой формой АД было обнаружено достоверное снижение IL-10 (40 пкг/мл). Показатели концентрации IL-2, IL-12 и IL-18 практически не отличались от показателей у здоровых лиц.

Обнаруженные в нашем исследовании иммунологические изменения подтвердили более ранние сообщения о значительном увеличении уровня IL-18 в сыворотке больных АД по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц [5].

Однако, нами были выявлены резкие отличия между уровнями сывороточного IL-18 у больных IgE-зависимой и IgE-независимой формой АД. Как оказалось, резкое увеличение IL-18 в сыворотке крови наблюдалось у всех больных IgE-зависимой формой АД, в отличие от неизменных показателей уровня этого цитокина, а также IL-2 и IL-12 у больных IgE-независимой формой АД. Это дает основание полагать, что дисбаланс цитокинов не является ведущим патогенетическим фактором в развитии IgE-независимой формы АД, о чем сообщалось ранее [1].

Как известно, IL-18 является синергистом IL-12 в индукции синтеза IFN- γ . Однако, IL-18 также способен индуцировать синтез IL-13 и является синергистом IL-2 в продукции цитокинов Th2 профиля. Это наталкивает на мысль, что увеличение синтеза IL-18 в условиях обнаруженного высокого уровня IL-2 сдвигает синтез цитокинов у больных IgE-зависимой формой АД в сторону продукции цитокинов лимфоцитами Th2 типа, таких как IL-4 и особенно IL-10 [5,7]. В подтверждение этого вывода, у пациентов с IgE-зависимой формой АД в нашем исследовании обнаружено увеличение сывороточной концентрации IL-10.

Недавно было показано также, что совместное применение препаратов IL-18 и IL-2 у мышей приводило к независимому от синтеза IL-4 увеличению продукции IgE. Была также обнаружена эозинофильная инфильтрация бронхов, увеличение продукции IgE и усиленный синтез цитокинов Th2 клетками и при комбинированном внутрилегочном введении IL-18 и аллергена амброзии у мышей [7]. Эти данные могут свидетельствовать о важной патогенетической роли IL-18 в развитии бронхиальной астмы.

Выводы

1. Высокий уровень IL-18, обнаруженный у больных IgE-зависимой формой atopического дерматита в нашем исследовании подтверждает возможную связь между концентрацией цитокина и стадией развития кожного заболевания.

2. Увеличение уровня IL-18 при условии снижения концентрации IL-12 в крови больных IgE-зависимой формой АД может служить важным критерием для

дальнейшей дифференциальной диагностики различных форм АД.

Литература

1. Furue M, Sugiyama H, Tsukamoto K et al. Serum soluble IL-2 receptor (sIL-2R) and eosinophil cationic protein (ECP) levels in atopic dermatitis // J. Dermatol. Sci.- 1994. 7.-P. 89-95.
2. Hoshino T, Wiltout RH, Young HA. IL-18 is a potent coinducer of IL-13 in NK and T cells: a new potential role for IL-18 in modulating the immune response // J. Immunol. - 1999. V.162.-P. 5070-7.
3. Jeannin P, Delneste Y, Seveso M et al. IL-12 synergizes with IL-2 and other stimuli in inducing IL-10 production by human T cells // J. Immunol. -1996. V. 156.-P. 3159-65..
4. Leung DY. Pathogenesis of atopic dermatitis// J Allergy Clin. Immunol. -1999. V.104. S99-108.
5. Okamura H, Tsutsui H, Kashiwamura S et al. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and ac-

quired immunity //Adv. Immunol. -1998. V.70. -P.281-312.

6. Werfel T, Kapp A. What do we know about the etiopathology of the intrinsic type of atopic dermatitis? //Curr. Probl. Dermatol. -1999. V.28.-P. 29-36.
7. Wild JS, Sigounas A, Sur N et al. IFN-γ-inducing factor (IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines, and airway eosinophilia in a mouse model of allergic asthma // J. Immunol. -2000. V.164.-P. 2701-10.
8. Wollenberg A, Bieber T. Atopic dermatitis: from the genes to skin lesions // Allergy -2000. V.55. -P. 205-13.
9. Wuthrich B. Clinical aspects, epidemiology, and prognosis of atopic dermatitis // Ann. Allergy Asthma Immunol. - 1999.V. 83.-P. 464-470
10. Yoshimoto T, Takeda K, Tanaka T et al. IL-12 up-regulated IL-18 receptor expression on T cells, Th1 cells, and B cells:synergism with IL-18 for IFN-γ. // J. Immunol. - 1998. V.161. -P.3400-7.

Summary

SERUM CYTOKINE LEVELS (IL-2, IL-10, IL-12, IL-18) FROM IgE-DEPENDENT AND IgE-INDEPENDENT FORMS OF ATOPIC DERMATITIS

Kurchenko A.I., Fesenkova V.I., Drannik G.N.

Key words: atopic dermatitis, cytokine, interleukin

The crossregulation of Th1/Th2 derivation and function in AD patients are incompletely characterized. We investigated serum levels of several cytokines (IL-2, IL-12, IL-10 and IL-18) in patients with IgE- dependent and IgE-independent forms of AD. Serum IL-18 levels in patients with IgE- dependent form of AD were significantly higher than those in IgE-independent form and healthy controls. These results suggest the value of serum IL-18 levels as a parameter of AD activity and may support a possible role for IL-18 in the pathogenesis of AD.

National medical university,

Dept. Clin. Immunology & Allergology. Y.Kotsubinskiy str., 9^a, Kiev, 04053

Матеріал надійшов до редакції 15.05.06.

© Куценко Н.Л.

удк 576.8.097.3.-092.9

ВПЛИВ ГІСТАМІНУ ТА ДЕЗЛОРАТАДИНУ НА ПРОЦЕСИ АПОПТОЗУ CD4⁺CD25⁺ Т РЕГУЛЯТОРНИХ КЛІТИН ДОНОРІВ IN VITRO

Куценко Н.Л.

Вищий державний навчальний заклад України

"Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

Изучено влияние гистамина и дезлоратадина на процессы апоптоза CD4⁺CD25⁺ Т регуляторных (Трег) клеток доноров. Донорами были 6 практически здоровых людей с негативными кожными пробами и отсутствием клинических признаков аллергических заболеваний. К полученной на градиенте плотности суспензии мононуклеаров периферической крови доноров добавляли гистамин в дозах 0,01, 0,1 и 1 мМ или дезлоратадин 0,1, 1 и 10 мМ и инкубировали на протяжении 72 часов. Субпопуляцию лимфоцитов и процессы апоптоза анализировали на проточном цитофлюориметре. В присутствии гистамина CD4⁺CD25⁺ Трег клетки доноров in vitro отвечали усилением процессов апоптоза, в пробах с дезлоратадином отмечен противоположный эффект. Гистамин стимулирует апоптоз CD4⁺CD25⁺ Трег клеток в суспензии мононуклеаров периферической крови доноров. H₁ и/или H₂ рецепторы задействованы в регуляции процессов апоптоза CD4⁺CD25⁺ Трег клеток.

Ключевые слова: гистамин, дезлоратадин, апоптоз, CD4⁺CD25⁺ Т регуляторные клетки.

В результаті численних досліджень в області імунології та алергології протягом останніх років було показано, що серед Т лімфоцитів периферійної крові людей є популяція клітин з регуляторними властивостями та фенотипом CD4⁺CD25⁺ [1, 2, 3]. Неодноразово показана їх роль в алотрансплантації, регуляції пухлинного росту та підтримці гомеостазу імунної системи [4, 5, 6, 7]. CD4⁺CD25⁺ Т регуляторні (Трег) клітини були ідентифіковані в периферійній крові хворих

на atopічні захворювання шкіри та дихальних шляхів. З'ясована їх здатність пригнічувати синтез цитокінів як Тх1, так і Тх2 клітинами під час активації Т лімфоцитів [8, 9]. Субпопуляція CD4⁺CD25⁺ Т лімфоцитів гетерогенна, яка різниться експресією активаційних маркерів, що впливає на функціональний стан цих клітин [9].

Добре відомий той факт, що баланс між популяціями клітин залежить від процесів проліферації та

апоптозу. Неодноразово було показано, що одним із патогенетичних механізмів розвитку алергічних захворювань (включаючи риніти та atopічну бронхіальну астму) є порушення процесів апоптозу серед різних популяцій лімфоцитів [10, 11, 12].

В попередніх наших роботах [13, 14] отримані нові дані про алергенспецифічний апоптоз Трег клітин у хворих на atopічну бронхіальну астму та про можливість блокуатора H_1 рецепторів – дезлоратадину попереджувати цей процес.

Тому, метою наших досліджень було дослідити вплив гістаміну та блокуатора H_1 рецепторів – дезлоратадину на рівень експресії та процеси апоптозу $CD4^+CD25^+$ Трег клітин практично здорових осіб *in vitro*.

Матеріали та методи

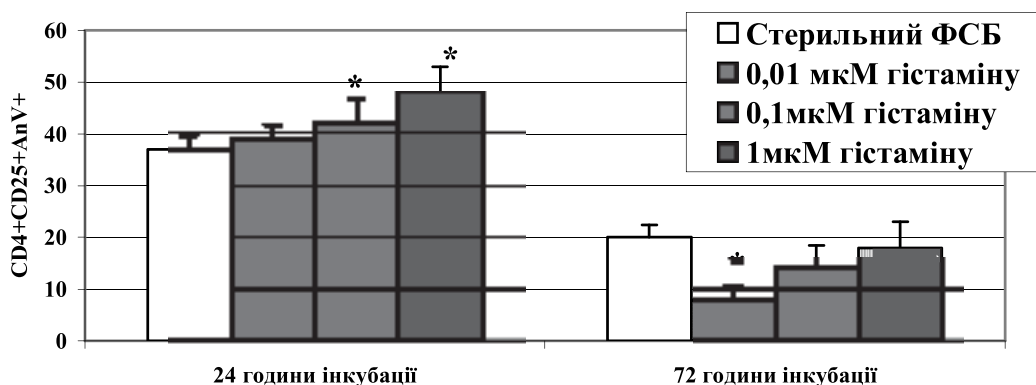
Під спостереженням знаходилося 6 практично здорових осіб віком 20–40 років з негативними шкірними пробами до алергенів та відсутнім алергологічним анамнезом. Згідно їхньої згоди та заключення комісії по біоетиці, забір крові проводили натщесерце за допомогою ондоразових пластикових шприців з розчином гепарину ("REANAL", Угорщина) (25 ОД/мл) із кубітальної вени. Мононуклеари периферійної крові виділяли на градієнті густини фікол-верографіну (густина 1,077 г/мл) із наступним відмиванням у фосфатно-сольовому буфері (ФСБ) з подальшим ресуспензуванням. Лімфоцити у кінцевій концентрації $2 \cdot 10^6$ клітин/мл культивували у середовищі RPMI-1640 з глютаміном (Sigma, США) з 10% інактивованою телячою сироваткою („Bio Mark Inc", Львів Україна), 100 мкг/мл гентаміну сульфату (ГНЦЛС, Україна) при 37°C. До інкубаційного середовища додавали гістамін (Sigma, США) в концентраціях 0,01, 0,1 та 1 μ M [15] або дезлоратадин ("Еріус", Шерінг-Плау, США) в концентраціях 0,1, 1 та 10 μ M, який попередньо був розчинений в диметилсульфоксиді (DMSO) [16, 17]. Для контролю суспензію лімфоцитів паралельно інкубували з дода-

ванням 10 мкл ФСБ (використовували як контроль на розчин для розведення гістаміну) або з 10 мкл DMSO.

Для ідентифікації клітинних субпопуляцій були використані наступні моноклональні антитіла: проти- $CD4$, мічених фікоеритрин-триколом, проти- $CD25$ мічених фікоеритрином (виробництва Caltag, США). Апоптоз $CD4^+CD25^+$ Т клітин визначали за допомогою АнексинуV, міченого флюорисцеїнізотіоціанатом (виробництва Caltag, США) та пропідіуму йодиду (Sigma, США), методом чотирьохколірного забарвлення [18]. При цьому, до 50мкл суспензії лімфоцитів, попередньо відмитих Hepes буфером (10 mM Hepes/NaOH, pH 7,4, 150 mM NaCl, 5mM KCl, 1mM $MgCl_2$, 1,8mM $CaCl_2$) шляхом центрифугування при 1,5 тис. об/хвилину 5 хвилин, додавали по 5мкл моноклональних антитіл та інкубували протягом 20 хвилин при кімнатній температурі в темряві. За 10 хвилин до закінчення інкубації вносили 10мкл пропідіуму йодиду. Флюорисценцію клітин визначали на проточному цитофлюориметрі EPIX LX-MCL (Beckman Coulter, США), використовуючи програму System II™ software.

Результати та їх обговорення

Як показали наші дослідження, через 24 години інкубації суспензії лімфоцитів практично здорових осіб в поживному середовищі в контрольних пробах (внесення стерильного ФСБ) відмічено збільшення кількості $CD4^+CD25^+AnV^+$ Т клітин майже в 2 рази, порівнюючи з показниками безпосередньо після виділення з периферійної крові. При цьому внесення гістаміну до суспензії лімфоцитів, на відміну від контрольних проб, призводило до дозозалежного збільшення рівня апоптозу Трег клітин через 24 години інкубації (рис.1). А проведення AnV-PI тесту суспензії лімфоцитів периферійної крові донорів через 72 години інкубації з гістаміном показало протилежні результати, які засвідчують про зниження рівня $CD4^+CD25^+AnV^+$ Т клітин з вірогідними максимальними змінами в мінімальній дозі медіатору.



Примітка. * - тут і подалі вірогідність змін показників з контролем ($p \leq 0,05$).

Рис.1 Вплив гістаміну на процеси апоптозу $CD4^+CD25^+$ Т регуляторних клітин периферійної крові практично здорових осіб *in vitro*.

Паралельно з дослідженням змін процесів апоптозу Трег клітин під впливом гістаміну нами було проаналізовано зміну рівня загальної кількості цих клітин в суспензії лімфоцитів під впливом медіатору. Через 24 години інкубації в контрольних пробах (внесення стерильного ФСБ) відмічено збільшення експресії

$CD4^+CD25^+$ Трег клітин в суспензії лімфоцитів, порівнюючи з дослідженнями безпосередньо після виділення з периферійної крові. Додавання гістаміну до інкубаційного середовища призвело до підвищення загальної кількості Трег клітин через 24 години інкубації (рис.2).

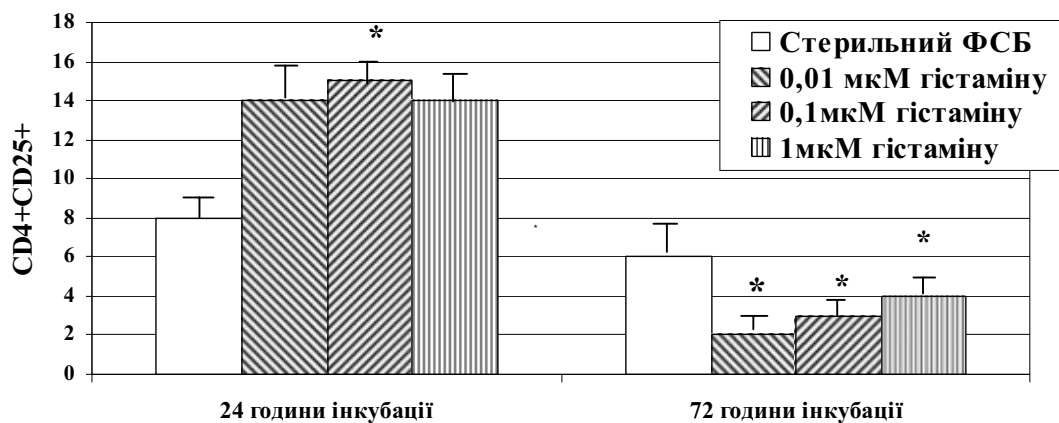


Рис. 2 Вплив гістаміну на загальну кількість $CD4^+CD25^+$ Т регуляторних клітин периферійної крові практично здорових осіб *in vitro*.

На відміну від цього, через 72 години спостерігалось вірогідне зменшення експресії $CD4^+CD25^+$ Трег клітин в усіх трьох експериментальних дозах медіатору.

В наступній частині досліджень ми вивчали вплив дезлоратадину на процеси апоптозу $CD4^+CD25^+$ Т регуляторних клітин у практично здорових осіб *in vitro*. Отримані результати свідчать, що через 24 години інкубації суспензії лімфоцитів в поживному середовищі в присутності дезлоратадину $CD4^+CD25^+$ Т клітини відповідали вірогідним зниженням експресії AnV на своїй поверхні в усіх експериментальних дозах препарату (рис.3). При цьому, подовження часу інкубації до 72 годин з антагоністом H_1 рецепторів призводило до незначних коливань рівня $CD4^+CD25^+$ Т клітин в порівнянні з контролем.

Вивчаючи процеси апоптозу $CD4^+CD25^+$ Т лімфоцитів нами було проаналізовано зміну загальної кількості цих клітин в суспензії лімфоцитів практично здорових осіб під впливом антагоністу H_1 рецепторів дезлоратадину *in vitro*. Таким чином, порівнюючи з контролем внесення досліджуваного препарату дезлоратадину до інкубаційного середовища призводило до зменшення рівня експресії Трег клітин через 24 години інкубації (рис.4). При цьому максимальні вірогідні зміни відмічені під впливом дезлоратадину в середній та максимальній дозі. Через 72 години інкубації клітин в поживному середовищі в присутності препарату відмічені лише несуттєві зміни загальної кількості Трег лімфоцитів.

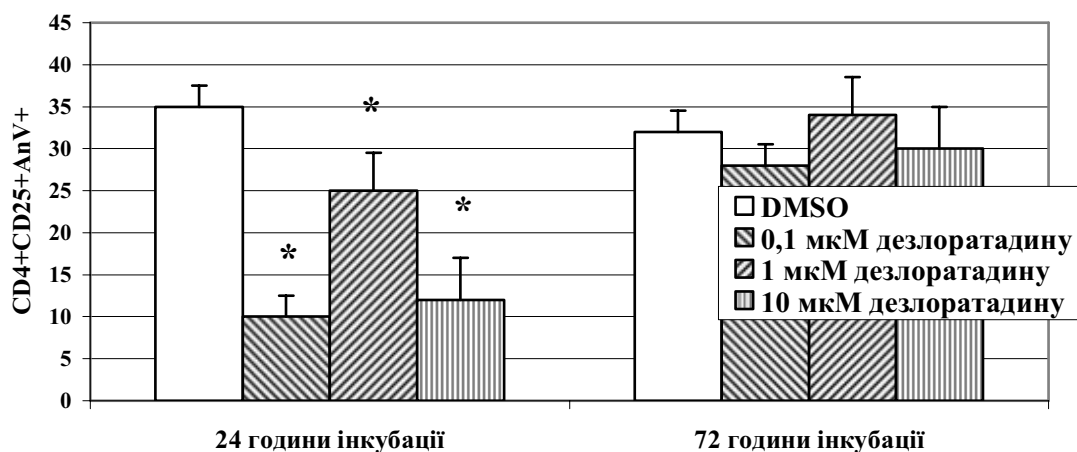


Рис. 3 Вплив дезлоратадину на процеси апоптозу $CD4^+CD25^+$ Т регуляторних клітин периферійної крові практично здорових осіб *in vitro*.

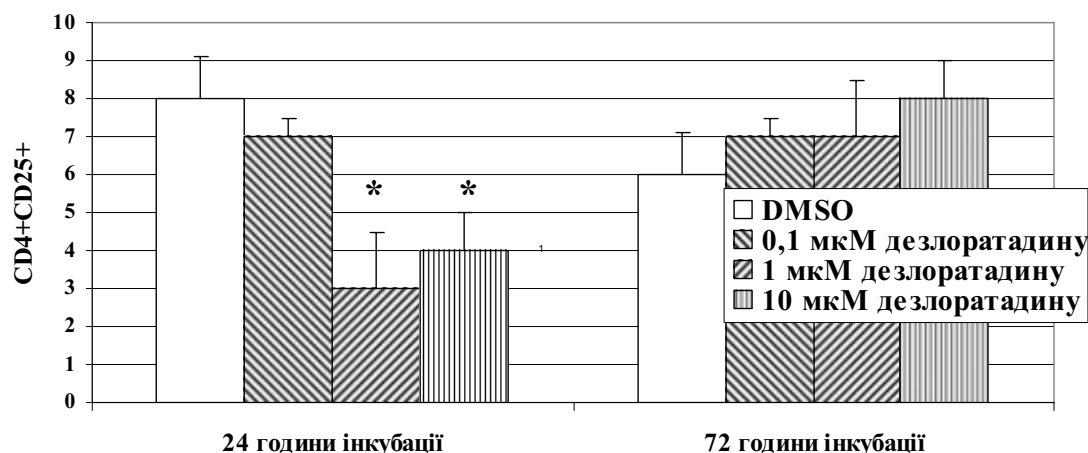


Рис. 4 Вплив дезлоратадину на загальну кількість $CD4^+CD25^+$ Т регуляторних клітин периферійної крові практично здорових осіб *in vitro*.

Таким чином, в наших дослідженнях показані зміни рівня експресії та процесів апоптозу $CD4^+CD25^+$ Трег клітин під впливом гістаміну та блокатору H_1 рецепторів - дезлоратадину. Як відомо, гістамін – основний медіатор патофізіологічних процесів в організмі людини. Окрім участі в патогенезі гострого запалення та реакцій гіперчутливості, медіатор залучений до розвитку хронічного запалення та змін функціонального стану клітин імунної відповіді [19, 20]. При цьому, гістамін впливає на проліферацію, синтез цитокінів, експресію молекул адгезії та МНС молекул макрофагами, дендритними клітинами, Т лімфоцитами, В лімфоцитами, епітеліальними та ендотеліальними клітинами [21, 22]. Свої ефекти медіатор реалізує через взаємодію з підтипами специфічних рецепторів, які диференційовано експресуються імунокомпетентними клітинами. Крім того, результати нещодавно проведених досліджень повідомляють про залежність ефекторних функцій гістаміну від експресії підтипу H рецепторів на поверхні клітин [23, 24, 25]. При цьому $Tx1$ переважно експресують H_1 рецептори, в той час як H_2 рецептори регулюють $Tx2$ клітини. Гістамін стимулює імунну відповідь за $Tx1$ типом через взаємодію з H_1 рецепторами, а зв'язування медіатору з H_2 рецепторами призводить до пригнічення імунної відповіді як за $Tx1$, так і за $Tx2$ типом, що обумовлене активацією різних внутрішньоклітинних сигналів. [24, 25, 26]. Крім того, відмічено, що гістамін через взаємодію з H_2 рецепторами призводить до індукції супресивного цитокіну ІЛ-10, який виконує основну регуляторну дію під час імунної відповіді, пригнічуючи проліферацію та синтез цитокінів Т клітинами [27].

Автором наступних експериментальних досліджень [28] була підтверджена участь гістаміну в модуляції $Tx1/Tx2$ балансу під час імунної відповіді. Відмічено, що медіатор дозозалежно індукуює супресію та відповідь $CD4^+$ Т лімфоцитів через стимуляцію трансформуючого фактору росту (ТФР)- $\beta 1$. Використовуючи рецептор-специфічні агоністи та антагоністи було показано, що ці ефекти обумовлені індукцією Трег клітин в результаті взаємодії гістаміну з H_2 рецепторами. [29].

Таким чином, отримана нами модуляція апоптозу $CD4^+CD25^+$ Трег клітин під впливом гістаміну та дезлоратадину свідчить про залучення H_1 та/або H_2 рецепторів в регуляцію функціонального стану цих клітин.

Література

- Stephens L.A., Mottet C., Mason D., Powrie F. Human $CD4^+CD25^+$ thymocytes and peripheral T cells have immune suppressive activity // Eur. J. Immunol.-2001.-Vol.31.-P.1247-1254.
- Ex vivo isolation and characterization of $CD4^+CD25^+$ T cells with regulatory properties from human blood / D. Dieckmann, H. Plottner, S. Berchtold et al. // J. Exp. Med.-2001.-Vol.193.-P.1303-1310.
- Identification and functional characterization of human $CD4^+CD25^+$ T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood / H. Jonuleit, E. Schmitt, M. Stassen et al. // J. Exp. Med.-2001.-Vol.193.-P.1285-1294.
- Shevach E.M. $CD4^+CD25^+$ suppressor T cells: More questions than answers // Nat. Rev. Immunol.-2002.-Vol.2.-P.389-400.
- McHugh R.S., Shevach E.M. The role of suppressor T cells in regulation of immune responses // J. Allergy Clin. Immunol.-2002.-Vol.110.-P.693-702.
- Karim M., Bushell A.R., Wood K.J. Regulatory T cells in transplantation // Curr. Opin. Immunol.-2002.-Vol.14.-P.584-591.
- Gallimore A., Sakaguchi S. Regulation of tumour immunity by $CD25^+$ T cells // Immunology.-2002.-Vol.107.-P.5-9.
- Human $CD4^+CD25^+$ T cells derived from the majority of atopic donors are able to suppress Th1 and Th2 cytokine production / I. Bellinghausen, B. Klostermann, J. Knop, J. Saloga // J. Allergy Clin. Immunol.-2003.-Vol.111.-P.862-868.
- Role of regulatory T cells in allergy and asthma / O. Akbari, P. Stock, R.H. Dekruyff, D. Umetsu // Curr. Opin. Immunol.-2003.-Vol.15.-P.627-633.
- Induction of peripheral mononuclear cell apoptosis in asthmatic patients in remission / T. Noma, Y. Sugawara, K. Aoki et al. // J. Asthma.-2002.-Vol.39, №7.-P.591-601.
- Eosinophil apoptosis in induced sputum from patients with seasonal allergic rhinitis and with asymptomatic and symptomatic asthma / A. Foresi, C. Teodoro, C. Leone et al. // Ann. Allergy Asthma Immunol.-2000.-Vol.84, №4.-P.411-416.
- Increased apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients with perennial allergic asthma/rhinitis: relation to serum markers of apoptosis / J. Grzegorzczak, M.L. Kowalski, A. Pilat, J. Iwaszkiewicz // Mediators Inflamm.-2002.-Vol.11, №4.-P.225-233.

13. Apoptotic disorders of CD4⁺CD25⁺ cells atopic patients / I. Kaidashev, N.Kutzenko, Geyko O., O.Borzih, L.M. DuBuske // XXIII EAACI Congress, Amsterdam, 12-16 June 2004.
14. Effects of desloratadine on apoptosis of T regulatory (Treg) cells in atopic patients / I. Kaidashev, N.Kutzenko, O.Borzih, L.M. DuBuske // XIX World Allergy Organization Congress, XXIV Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology.-Munich, Germany.-2005.-P.455.
15. Expression and functional characterization of the histamine H₁ receptor on human lung macrophages / A. Petraroli, F. Granata, B. Balestrieri et al. // Allergy.-2002.-Vol.57, Suppl.73.-P.146.
16. Influence of desloratadine on the chemotactic activity of human polymorphonuclear leukocytes / M. Huger, C. Traidl-Hoffmann, A. Kasche et al. // Allergy.-2002.-Vol.57, Suppl.73.-P.38.
17. Effects of desloratadine on Th2-cytokine secretion of peripheral blood leukocytes from patients with allergic rhinitis, patients with allergic asthma and healthy controls / H. Biller, S. Kunze, W. Luttmann, J. Virchow // Allergy.-2002.-Vol.57, Suppl.73.-P.146.
18. Induction of peripheral mononuclear cell apoptosis in asthmatic patients in remission / T. Noma, Y. Sugawara, K. Aoki et al. // J. Asthma.-2002.-Vol.39, №7.-P.591-601.
19. Jutel M., Watanabe T., Akdis M. Immune regulation by histamine // Curr. Opin. Immunol.-2002.-Vol.14.-P.735-740.
20. Jutel M., Blaser K., Akdis C. Histamine in allergic inflammation and immune modulation // Int. Arch. Allergy Immunol.-2005.-Vol.137.-P.82-92.
21. Akdis C.A., Blaser K. Histamine in the immune regulation of allergic inflammation // J. Allergy Clin. Immunol.-2003.-Vol.112, №7.-P.15-22.
22. Macglashan D. Histamine: a mediator of inflammation // J. Allergy Clin. Immunol.-2003.-Vol.112.-P.53-59.
23. Histamine regulates cytokine production in maturing dendritic cells, resulting in altered T cell polarization / A. Mazzoni, H.A. Young, J.H. Spitzer et al. // J. Clin. Invest.-2001.-Vol.108.-P.1865-1873.
24. Histamine regulates T cell and antibody responses by differential expression of H1 and H2 receptors / M. Jutel, T. Watanabe, S. Klunker et al. // Nature.-2001.-Vol.413.-P.420-425.
25. Banu Y., Watanabe T. Augmentation of antigen receptor mediated responses by histamine H1 receptor signaling // Exp. Med.-1999.-Vol.189.-P.673-682.
26. Role for interleukin-3 in mast-cell and basophil development and in immunity to parasites / C.S. Lantz, J. Boesiger, C.H. Song et al. // Nature.-1998.-Vol.392.-P.90-93.
27. Osna N., Elliott K., Khan M.M. Regulation of interleukin-10 secretion by histamine in TH2 cells and splenocytes // Int. Immunopharmacol.-2001.-Vol.1.-P.85-96.
28. Histamine enhances TGF-beta 1-mediated suppression of Th2 responses / S. Kunzmann, P.Y. Mantel, J.G. Wohlfahrt et al. // FASEB J.-2003.-Vol.17, №6.-P.1089-1095.
29. Histamine enhances TGF-beta 1-mediated suppression of Th2 responses / S. Kunzmann, P.Y. Mantel, J.G. Wohlfahrt et al. // FASEB J.-2003.-Vol.17, №6.-P.1089-1095.

Summary

The influence of histamine and desloratadine on apoptosis of CD4⁺CD25⁺ T regulatory (Treg) cells in donors was assessed. Donors were 6 healthy individuals without symptoms of allergic disease and with negative skin tests. Histamine was added to cultures of Ficoll density gradient purified peripheral blood mononuclear cells from donors in doses of 0,01, 0,1 and 1 μM or desloratadine was added in doses of 0,1, 1 and 10 μM and incubated up to 72 hours. Lymphocyte subpopulation and apoptosis were analyzed by flow cytometry. *In vitro* histamine induced apoptosis of CD4⁺CD25⁺ Treg cells in donors, while desloratadine inhibited apoptosis. Histamine induces apoptosis of CD4⁺CD25⁺ Treg cells in cultures of peripheral blood mononuclear cells from donors. The type 1 and/or type 2 histamine receptor may assist regulation of apoptosis of CD4⁺CD25⁺ Treg cells.

Key words: histamine, desloratadine, apoptosis, CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells.

**Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Ukrainian Medical Stomatological Academia,
Shevchenko Str., 23, Poltava, 36024**

Матеріал надійшов до редакції 21.06.06.

© Пустовойт Г.Л.

УДК 616. 61 – 002.3 – 092 : 616.98

ЙМОВІРНА РОЛЬ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ТРАНСЛОКАЦІЇ ІЗ КИШЕЧНИКА У ПАТОГЕНЕЗІ ХРОНІЧНОГО ПІЕЛОНЕФРИТУ

Пустовойт Г.Л.

Вищий державний навчальний заклад України

"Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

Проведено бактериологическое исследование аутопсийного материала, взятого у 10 человек молодого и зрелого возраста (средний возраст $36,3 \pm 3,3$ лет), 10 человек среднего возраста (средний возраст $52,3 \pm 1,8$ лет) и 10 человек пожилого и старческого возраста (средний возраст $69,4 \pm 3,7$ лет), которые при жизни не имели нефрологической патологии. По результатам исследования, бактериальная микрофлора, которая может выступать в роли уропатогенов, из почки выделена у 20 объектов исследования (66,7%), из тонкой кишки – у 16 объектов исследования (53,3%) и из толстой кишки – у 16 объектов исследования (53,3%). Из них, в 9 случаях (45,0%) из почки и кишечника выделена идентичная микрофлора. Выделение бактериальной микрофлоры из почечной ткани людей, которые при жизни не имели каких-либо данных про заболевания почек, дает основания допустить существование бактериальной транслокации из кишечника как физиологического явления, которое наблюдается на протяжении всей жизни. Характерно, что этот процесс усиливается с возрастом, создавая условия для инфицирования почек и хронизации инфекционного воспалительного процесса.

Ключевые слова: бактериальная транслокация из кишечника, хронический пиелонефрит, патогенез.

Впродовж минулого століття неодноразово робились спроби з'ясувати механізми розвитку піелонефриту (ПН). При цьому, виділяють три історичних етапи в еволюції поглядів на патогенез ПН. На першому етапі (кінець XIX – перша половина XX століття) уриногенне розповсюдження інфекції із сечового міхура у нирки нарівні з гематогенним надходженням із екстрауринарних запальних вогнищ вважались основними шляхами інфікування нирок. На другому етапі (50-60-і роки XX століття) гематогенний шлях інфікування нирок протиставлявся уриногенному. Ставилась під сумнів сама можливість розповсюдження інфекції по сечовому руслу проти току сечі. Вважалось, що навіть при обструктивному піелонефриті інфекція потрапляє із миски у ниркову тканину гематогенним шляхом внаслідок пієлоvenoзного рефлюксу. На третьому етапі (70-80-і роки XX століття) була доведена можливість уриногенного інфікування нирок нарівні з гематогенним і робились спроби поєднати ці два механізми розвитку піелонефриту [10].

Як відомо, абсцес нирки частіше розвивається внаслідок метастатичного заносу мікроорганізмів із віддалених гнійних вогнищ. Гематогенний шлях інфікування нирок може реалізуватися також у ході системних інфекційних запальних процесів, які характеризуються вираженою бактеріємією. Мікроби чи мікробні емболі осідають переважно у капілярах навколо звивистих каналців у корковій речовині нирки, ініціюючи початок гострого інфекційного запального процесу у нирках [14]. Крім того, інфекційні збудники здатні затримуватись у капілярах клубочків, пошкоджувати у процесі життєдіяльності клубочкову мембрану, капсулу Шумлянського-Боумана та проникати у звивисті каналці. В останніх починається їх бурхливе розмноження та агресія проти епітелію. Далі через порушену цілісність стінки каналців інфекційні збудники потрапляють до перетубулярно розташованих структур нирки [1].

Ряд дослідників є прихильниками погляду, згідно якого бактерії частіше потрапляють до нирок рефлюкс-огенним шляхом із нижче розташованих відділів се-

чової системи. У першу чергу це стосується механізму розвитку хронічного ПН [17]. При цьому, резервуаром уропатогенних бактерій вважають пряму кишку, промежину та уретру. У чоловіків джерелом уропатогенів може бути передміхурова залоза [8], а у жінок – піхва [16].

Проте, у публікаціях останніх років все частіше висловлюються погляди відносно важливої ролі бактеріальної транслокації із кишечника у патогенезі ПН [3, 4]. На генетичному рівні було доведено зв'язок рецидивного характеру хронічного ПН з уропатогенними штамми *E.coli*, що колонізують пряму кишку, промежину та уретру [8]. При обстеженні хворих з неускладненим ПН було встановлено однакову частоту нефрогенних штамів *E.coli* у ректальному мазку та урокультури [9]. Адгезія бактерій кишкової групи до уротелію на фоні зниження місцевого імунітету може стати причиною розвитку та хронізації інфекційного запального процесу в нирках [18].

На сьогоднішній день достеменно відомо, що товста кишка є істотним резервуаром грам-негативної анаеробної мікрофлори [13]. У нормі до кров'яного русла може надходити відносно невелика кількість бактерій. Як правило, у системі воротної вени бактеріальні агенти зв'язуються клітинами Купфера, макрофагами та іншими структурами [20]. Висловлюється думка про те, що бактеріальна транслокація із кишечника на відносно низькому рівні може спостерігатися у практично здорових людей [2]. Означений процес відбувається впродовж всього кишкового тракту, але з більшою інтенсивністю у тонкому кишечнику [7]. На фоні кишкового дисбіозу інтестинальна проникливість здатна значно підвищуватись [6, 11, 12]. Після прориву мікрофлори до лімфатичного, потім кров'яного русла, відбувається гематогенна дисемінація, котра може ініціювати інфекційний запальний процес у нирках [4]. Певну роль в означеному механізмі розвитку ПН може відігравати загальна резистентність організму, біологічні властивості бактерій, порушення уродинаміки та ниркової гемодинаміки [9]. Обтяжуючим факто-

ром виступає інволютивне порушення мікробіоценозу [15, 19].

Метою дослідження було вивчення ймовірної ролі бактеріальної транслокації із кишечника у патогенезі хронічного пієлонефриту.

Матеріали і методи

Для вирішення поставлених завдань було проведене бактеріологічне дослідження аутопсійного матеріалу взятого від 10 померлих молодого і зрілого віку (20-44 роки) – перша група спостереження, 10 померлих середнього віку (45-59 років) – друга група спостереження та 10 померлих похилого і старечого віку (≥60 років) – третя група спостереження. Середній вік об'єктів дослідження, у яких за життя не було будь-яких даних за захворювання нирок, відповідно складав 36,3±3,3 років, 52,3±1,8 років та 69,4±3,7 років. Аутопсійний матеріал (шматочки нирки, товстої та тонкої кишки) набирали не пізніше, чим через 12 годин після смерті людини та доставляли у лабораторію не пізніше, ніж через годину після забору. Зі шматочків тканин готували мазки-відбитки, які фарбували по Граму. При мікроскопічному дослідженні визначали кількість бактерій, морфологію та тінкторіальні властивості мікроорганізмів. Залежно від результатів бактеріоскопії, досліджуваний матеріал висівали на „подвійне середовище”, „середовище для контролю стерильності” збагачене, 5% кров'яний агар та додаткові середовища (жовтково-сольовий агар, середовище Ендо, ЦПХ-агар). Перед мікробіологічним дослідженням зі шматочків органів і тканин стерильними інструментами видаляли поверхневий шар та свіжими зрізами робили відбитки (площею 2см²) на щільних поживних середовищах. Після інкубації проводили дослідження мікрофлори.

Результати та їх обговорення

За результатами дослідження, бактеріальна мікрофлора, котра може виступати у ролі уропатогенів, із нирки виділена у 20 об'єктів дослідження (66,7%), із тонкої кишки – у 16 об'єктів дослідження (53,3%) та із товстої кишки – у 16 об'єктів дослідження (53,3%). Із них, у 9 випадках (45,0%) із нирки та кишечника була виділена ідентична мікрофлора. При цьому, із ниркової тканини у 8 спостереженнях (40,0%) було виділено три уропатогена, у 7 спостереженнях (35,0%) – два уропатогена та у 5 спостереженнях (25,0%) – один уропатоген.

Характерно, що у віковій категорії 20-44 роки частота позитивних результатів бактеріального дослідження зразків нирки дорівнювала 40,0%, у віковій категорії 45-59 років – 60,0%, а після 60 років 100,0%. Вищевикладене дозволяє припустити не лише існування бактеріальної транслокації із кишечника як фізіологічного явища, що відбувається впродовж усього життя у “практично здорових людей”, а й посилення означеного процесу з віком. Результати дослідження підтверджують спостереження О.Б.Кутового та співавторів (2003), згідно яких з віком знижується бар'єрна функція кишечника і спостерігається більш виражена транслокація бактерій у кров'яне русло та внутрішні органи, у т.ч. – у нирки [5]. На наш погляд, виділення патогенної мікрофлори із кишечника вказує на порушення мікробіоценозу. Спектр мікрофлори, яка висівалась із ниркової тканини та кишечника, свідчить про її уропатогенність. У більшості випадків мало місце поєднання грам-позитивних та грам-негативних культур (табл. 1).

Таблиця 1.
Спектр мікробної флори, виділеної з аутопсійного матеріалу досліджуваних об'єктів різного віку

№ п/п	Вік померлого (років), стать	Характер аутопсійного матеріалу		
		Нирка	Тонка кишка	Товста кишка
1	62/ж	Enterobacter Str. agalactiae	Enterobacter Citrobacter	Citrobacter
2	65/ж	Enterobacter	K. pneumoniae	K. pneumoniae
3	69/ж	E. faecalis Enterobacter	K. oxytoca	K. oxytoca
4	67/ч	K. oxytoca	K. pneumoniae	K. pneumoniae
5	70/ч	E. coli	Citrobacter	Citrobacter
6	68/ж	Citrobacter Staph. saprophyticus	Citrobacter	Citrobacter
7	63/ж	Citrobacter Staph. aureus Str. pyogenes	Staph. aureus	Staph. aureus
8	52/ч	E. coli E. faecalis Staph. aureus	Citrobacter	Citrobacter
9	52/ж	E. coli K. pneumoniae Staph. aureus	Moraxella	E. coli Citrobacter
10	67/ч	E. coli Str. pyogenes Staph. aureus	E. coli Citrobacter	E. coli
11	64/ч	Enterobacter K. pneumoniae Str. agalactiae	E. coli Enterobacter Citrobacter	E. coli Enterobacter Citrobacter
12	53/ж	K. pneumoniae Str. pyogenes Staph. saprophyticus	Не виділена	Не виділена

№ п/п	Вік померлого (років), стать	Характер аутопсійного матеріалу		
		Нирка	Тонка кишка	Товста кишка
13	26/ч	E. coli Str. agalacticae Staph. epidermidis	Не виділена	Не виділена
14	33/ж	E. coli	Citrobacter Candida albicans ($>10^5$)	Citrobacter
15	47/ж	Enterobacter E. faecalis	E. coli Citrobacter	Citrobacter
16	73/ч	K. pneumoniae Citrobacter Str. agalactiae Staph. saprophyticus	K. pneumoniae Citrobacter Candida brumpti ($<10^5$)	Citrobacter Candida brumpti ($<10^5$)
17	57/ч	K. oxytoca Str. agalactiae	Citrobacter	Citrobacter
18	41/ж	E. coli E. faecalis	Не виділена	Не виділена
19	37/ч	E. coli	E. coli Citrobacter	E. coli Citrobacter
20	52/ч	E. coli Str. pyogenus	Не виділена	Не виділена

Висновки

Виділення ідентичної бактеріальної мікрофлори, котра може виступати у ролі уропатогенів, із ниркової тканини та кишечника у людей, які за життя не мали будь-яких даних за захворювання нирок, дає підставу припустити існування бактеріальної транслокації із кишечника як фізіологічного явища, що спостерігається впродовж усього життя, та його ймовірну роль у патогенезі пієлонефриту. Означений процес посилюється з віком, створюючи умови для інфікування нирок та хронізації інфекційного запального процесу.

Література

1. Айвазян А.В., Войно-Ясенецкий А.М. Острые заболевания почек и мочевыводящих путей.- М.: Наука, 1985.- 264 с.
2. Бердичевский Б.А., Цветчих В.Е., Лернер Г.Я. и др. Бессимптомная бактериурия как проявление симптома активации и персистенции эндогенной микрофлоры в динамике адаптации человека к стрессу // Урол. и нефрол. – 1993. - №2. – С. 12-16.
3. Гриценко В.А., Вялкова А.А., Бухарин О.В. Патогенетическое обоснование клинико-микробиологической классификации бактериурии // Рос. вестн. перинатол. и педиатр.- 1997.- Т.2, №5.- С.54-59.
4. Капшитар Ю.Г., Сидоренко И.И., Звягольская И.Н. Роль бактериальной транслокации в патогенезе острого пиелонефрита // Актуал. пробл. сучасн. мед.: Вісн. Укр. мед. стомат. акад. Т.5, вип. 2(10).- 2005.- С.15-18.
5. Кутовой О.Б., Риженко С.А., Молчанов Р.М., Вальчук С.І. Використання *Aerococcus viridans* для профілактики хірургічних та урологічних ускладнень, обумовлених мікробною транслокацією // Урологія.- 2003.- Т.7, №1(24). С.23-25.
6. Митрохин С.Д., Минаев В.Н., Зайцева Н.А. Факторы персистенции условно-патогенных микроорганизмов при дисбактериозе желудочно-кишечного тракта // Микробиология, эпидемиология и иммунология.- №7.- 1997.- С.87-89.
7. Никитенко В.И., Захаров В.В., Бородин А.В. и др. Роль транслокации бактерий в патогенезе хирургической инфекции // Хирургия.- 2001.- №4.- С.63-66.
8. Пытель Ю.А., Золотарев И.И. Терапия хронического необструктивного пиелонефрита // Урол. и нефрол. – 1994. - №1. – С.20-22.
9. Сенцова Т.Б. Иммунобиологические критерии хронизации пиелонефрита // Педиатрия.- 1997.- №2.- С.64-66.
10. Удовичий Ю.І. Уриногенні джерела інфікування нирок // Урологія.— 1998.—Т.2, №2.— С.27-34.
11. Урсова Н. Дисбактериозы у детей //Новости медицины и фармации: Педиатрия.-2004.- №6 (146).- С.13-15.
12. Ухаль М.І., Костев Ф.І., Ухаль О.М. Роль бактеріальної транслокації кишкової мікрофлори у розвитку гострого пієлонефриту в умовах первинного кишкового дисбактеріозу //Урологія.-2000.- №3.- С.19-21.
13. Харченко Н.В., Бойко С.В., Токарь Д.В., Харченко В.В. Биocenоз кишечника и коррекция его нарушений //Новости медицины и фармации: Гастроэнтерология.- 2005.- №20-22 (180-182).- С.5.
14. Шабад А.Л., Шарапов Ю.Ф., Константинов Г.С. Особенности этиологии и патогенеза клинического течения и лечения разных форм острых инфекционных заболеваний почек //Урол. и нефрол.- 1987.- №6.- С.15-22.
15. Childs S.J., Egan R.J. Bacteriuria and urinary infections in the elderly // Urol. Clin. N. Amer.- 1996.- Vol.23.- P.43-53.
16. Darouiche R.O., Cadle R., Kil Ki-Soo. Recurrence of bacteriuria and progress to symptomatic urinary tract infections in spinal cord – injured patients // J. Rehabil. Res. Develop.- 1996.- Vol.33.- P.264-269.
17. Goluszko P., Moseley S.L., Truong L.D. Development of experimental model of chronic pyelonephritis with E.Coli 075: k5:H – bearing Dr fimbriae: mutayion in the dry region prevented tubulointerstitial nephritis // J. Clin. Invest.- 1997.- Vol. 99.- №7.- P.1662-1672.
18. Nickel J.C., Robert J. C. Bacterial biofilms in urologi // Infect. Urol.- 1998.- V.11, №6.- P.169-175.
19. Raz R. Postmenopausal women with recurrent UTI // Int. J. Antimicrob. Agent.- 2001.- Vol.17.- H.269-271.
20. Wells C.L., van de Westerlo E.M., Jechorec R.P., Erlandsen S.L. Intracellular survival of enteric bacteria in cultured human enterocytes //Shock.- 1996.-V.6, №1.- P.27-34.

Summary

PROBABLE ROLE OF BACTERIAL TRANSLOCATION FROM INTESTINE IN CHRONIC PYELONEPHRITIS PATHOGENESIS

Pustovoit A.L.

Key words: bacterial translocation from intestine, chronic pyelonephritis, pathogenesis.

There were done a bacteriologic tests of postmortem material taken from 10 persons of young and middle age (mean age 36,3±3,3 years), 10 persons of middle age (mean age 52,3±1,8 years) and 10 persons of elder and senile age

(mean age 69,4±3,7 years) that didn't have any renal pathology. Probably uropathogenic bacteria were obtained from kidneys in 20 persons (66,7%), from small intestine in 16 persons (53,3%) and from large intestine in 16 persons (53,3%). From the above mentioned in 9 cases (45,0%) bacteria obtained from kidney and intestine were the same. Obtaining of bacteria from the renal tissue in persons that didn't have any renal pathology affords ground for suppose of intestinal bacteria translocation as physiologic process that continues during all life. Intensifying of this process in mature and senile age creates a background for kidney infectioning and development of chronic inflammatory response.

**Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Ukrainian Medical Stomatological Academia,
Shevchenko Str., 23, Poltava, 36024**

Матеріал надійшов до редакції 6.05.06.

© Ястремська І.А.

УДК 612.112: 616.248 – 092.9

ВПЛИВ ДЕЗЛОРАТАДИНУ ТА ФАМОТИДИНУ НА АПОПТОЗ ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ У ЩУРІВ

Ястремська І.А.

Вищий державний навчальний заклад України

„Українська медична стоматологічна академія”, м. Полтава

Препараты, действующие на гистаминовые рецепторы, широко используются в терапии аллергии. В то же время, недостаточно изученным является вопрос об эффекте блокирования тех или иных гистаминовых рецепторов на процессы иммунорегуляции, в частности, на апоптоз иммунных клеток, в норме и при патологии. В работе представлены результаты исследования различных стадий апоптоза лимфоидных клеток (ЛК) (лимфоцитов, тимоцитов, спленоцитов, мононуклеаров периферической крови) на экспериментальной модели бронхиальной астмы, вызванной сенсибилизацией к овальбумину, у крыс. Отмечено, что при бронхиальной астме замедляются процессы программированной смерти. Увеличивается процент клеток, вступающих в апоптоз, но непосредственно процесс программированной смерти замедляется. Исследован базальный уровень апоптоза у крыс. Проанализированы изменения апоптоза после использования H1- и H2-блокаторов. Дезлоратадин и фамотидин модулируют разные стадии апоптоза. Применение дезлоратадина привело к нормализации показателей ранних стадий апоптоза всех субпопуляций ЛК и всех стадий апоптоза спленоцитов. Фамотидин привел к нормализации всех стадий апоптоза лимфоцитов и спленоцитов.

Ключевые слова: апоптоз, дезлоратадин, фамотидин, экспериментальная бронхиальная астма, рецепторы гистамина, крысы.

До теперішнього часу патогенез atopічної бронхіальної астми (АБА) та atopії в цілому стає все більш зрозумілим, однак етіологія захворювання залишається невідомою, незважаючи на прогрес, досягнутий в області генетичних досліджень цього захворювання. Одним з важливих ген-регулюємих процесів є апоптоз. Процес апоптозу тісно пов'язаний з низкою сигнал-провідних систем (аденілатциклазною, фосфоінозитидною та ін.), зміни яких мають велике патогенетичне значення і для АБА. Крім того, інгібітори або індуктори апоптозу – інтерлейкіни, інтерферони, глюкокортикоїди, екстраклітинний матрикс – є ключовими і в патогенезі захворювання АБА.

Відомо, що одним з головних ланцюгів патогенезу АБА є інфільтрація бронхіального дерева клітинами, що відповідальні за розвиток хронічного запалення, яке призводить до тривалої обструкції дихальних шляхів, та визначають хронічний характер перебігу захворювання. До цих клітин відносяться, в першу чергу, лімфоцити та еозінофіли, які являють собою відповідно регуляторний та ефекторний ланцюг запалення, що розвивається в легенях [1].

Можна припустити, що наявність при atopічних захворюваннях в органах-мішенях тривало-існуючих клітин регуляторного та ефекторного ланцюгів може бути обумовлено не лише підвищеною міграцією останніх в тканини, але і уповільненням їх елімінації внаслідок порушення процесів апоптозу.

Усвідомлення ролі апоптозу в підтримці постійної чисельності клітинних популяцій, а також формоутворення та вибірки дефектних клітин, інтенсифікувало пошук фармакологічних засобів, здатних впливати на апоптоз [2].

Серед протиалергічних засобів H1-антигістамінні препарати посідають особливе місце у зв'язку з їх широким використанням в медичній практиці протягом останніх 60 років. Різноманітні протиалергічні ефекти добре вивчені в умовах *in vitro* у препарата 3-го покоління дезлоратадину – активного метаболіту лоратадину. Його висока афінність по відношенню до H₁-рецепторів, відсутність небажаних ефектів на ЦНС, серцево-судинну та шлунково-кишкову систему, навіть, в дозах, які суттєво перевищують рекомендовану, дозволяє лікарям широко використовувати дезлоратадин в медичній практиці. [3]. Ефективність препарату, як протиалергічного та протизапального засобу неодноразово відмічена та доведена в клінічних спостереженнях [4,5].

Останнім часом в публікаціях вітчизняних та закордонних дослідників відмічені додаткові, неспецифічні ефекти блокаторів H₂-гістамінових рецепторів [6]. В теперішній час антагоністи рецептора H₂ застосовуються для зниження тяжкості імуносупресії при травмі, переливанні крові та сепсисі в хірургії, а також для лікування хворих після операції з приводу злоякісних новоутворень. Справляють позитивний лікувальний

ефект при деяких злоякісних, пухлинних, автоімунних та шкірних захворюваннях окремо, чи в поєднанні з іншими препаратами [7].

В нейроімунному регулюванні антагоністи H_2 -рецепторів призводять до статистично вагомого посилення і гуморальної, і клітинної імунної відповіді [8]. Блокують супресію ІЛ-12 і стимуляцію ІЛ-10, індукованих гістаміном, змінюючи баланс $Th1/Th2$ на користь $Th1$. Це дає можливість використання H_2 -блокаторів для посилення функції $Th1$ при деяких типах інфекцій і пухлин та інгібіції $Th2$ -активності при деяких алергічних реакціях [9].

Метою роботи стало дослідження процесів апоптозу лімфоїдних клітин щурів на моделі бронхіальної астми та можливості корекції порушень апоптозу шляхом застосування селективних блокаторів H_1 - та H_2 -гістамінових рецепторів дезлоратадину та фамотидину.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження були проведені на 40 самцях щурів лінії Вістар віком 6-7 місяців, з масою тіла 250 – 300 г. Лабораторних тварин утримували в умовах віварію ВДНЗУ „Українська медична стоматологічна академія” на стандартному раціоні харчування. Всі маніпуляції з тваринами проводились за дозволом біоетичної комісії ВДНЗУ УМСА.

З метою вирішення поставлених в роботі завдань у піддослідних тварин була відтворена експериментальна модель бронхіальної астми. Щури були сенситизовані внутрішньоочеревинним введенням 0,5 мг овалбуміну/10 мг гідроокису алюмінію в 0,9% стерильному фізіологічному розчині. На 12, 14, 16, та 18 день всі групи були аероалергізовані овалбуміном в дозі 10 мг/мл в об'ємі 700 см³ з діаметром часточок аерозолі 10 мкм при максимальному розпиленні рідини 0,4 мл/хв протягом 15 хв 3 рази з інтервалом 30 хв за допомогою інгалятора ультразвукового „Муссон-2” (ФГУП „Алмаз”, г. Ростов-на-Дону, Росія). Через 24 години після останнього впливу аерозолі у щурів спостерігались ознаки бронхіальної астми [10,11].

З метою дослідження впливу селективних H_1 - та H_2 -блокаторів гістамінових рецепторів на апоптоз лімфоїдних клітин при атопії були застосовані дезлоратадин („Еріус”, Шерінг-Плау, США) в дозі 0,07 мг/кг маси та фамотидін (КМП, Україна) в дозі 0,6 мг/кг маси тіла тварини. Препарати вводили перорально з інтервалом 24 години протягом 10 днів з моменту появи проявів бронхіальної астми [3,12].

Дослідні тварини були розподілені на наступні групи: 1) інтактні тварини (n=10); 2) контрольна група – тварини з експериментальною бронхіальною астмою (n=10); 3) тварини з експериментальною бронхіальною астмою, яких лікували дезлоратадином (n=10); 4) тварини з експериментальною бронхіальною астмою, яких лікували фамотидином (n=10).

У експериментальних тварин після забою під тіопенталовим наркозом забирали тимус, селезінку, периферичні лімфатичні вузли та кров з правого шлуночка серця з подальшим отриманням суспензії клітин. Суспензію мононуклеарів периферійної крові отримували шляхом інкубації гепаринізованої крові при 37° С протягом 1,5 години. Далі відбирали плазму в пробірки, клітини осаджували центрифугуванням при 1500 об/хв протягом 5 хвилин із наступною відмивкою фізі-

ологічним розчином та подальшим ресуспендуванням. Суспензії тимоцитів, спленоцитів та лімфоцитів готували за стандартними методиками [13]. Загальну кількість клітин у суспензії підраховували в камері Горяєва, життєздатність клітин визначали в тесті з трипановим синім.

Методом проточної лазерної цитофлюориметрії (ПЛЦ) визначали експресію апоптотичних маркерів лімфоїдних клітин. Розвиток апоптозу визначали за допомогою аннексину V міченого FITC (Caltag, США), а також за допомогою флюорисцентного барвника пропідіума йодиду (ПІЙ), для визначення некротизованих клітин (двохкольорове забарвлення) [14].

Клітини доводили до концентрації 10⁵ в 100 мкл, відмивали в 0,5 мл Гепес-буфера (10 mM Hepes, 150 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1,8 mM CaCl₂, pH 7,4) при 1500 об/хв 5 хв., зливали надосад та ретельно ресуспендували. З додаванням 5 мкл аннексину V-FITC та 10 мкл пропідіума йодиду клітини інкубували в темноті при кімнатній температурі по 10 хв. Потім додавали 1 мл Гепес-буфера та аналізували проби на проточному цитофлюориметрі EPIC LX-MCL (Beckman Coulter, США).

Оцінка кінцевих стадій апоптозу (гіперхромність ядер, конденсація й фрагментація хроматину) включала морфологічний метод – забарвлення цитоцентрифужних препаратів за Май-Грюнвальдом-Романовським-Гімзою (МГРГ). Підрахунок клітин проводили за допомогою біокулярного мікроскопу „Биолам Р11”, (Ломо, Росія). Комплексна оцінка апоптозу включала відсотковий вміст клітин, що знаходяться в стадії апоптозу.

Статистичну оцінку отриманих результатів експерименту проводили за допомогою програми „STATISTICA”. Використовуючи t-критерій Ст'юдента обчислювали середнє арифметичне (M) та його похибку (m). Вірогідність відмінностей визначали використовуючи непараметричні методи статистичних пакетів, а саме критерій Вількінсона –Манна – Уїтні (U) [15].

Результати та їх обговорення

Першим етапом нашого дослідження було визначення базального рівня апоптозу лімфоїдних клітин в інтактній групі тварин. Нами був застосований комплексний підходу оцінки апоптозу – визначення експресії апоптотичних маркерів методом ПЛЦ та морфологічний метод забарвлення за МГРГ, що дало можливість проаналізувати процеси апоптозу лімфоїдних клітин, враховуючи різні стадії його розвитку [16].

Відомо, що процес апоптозу проходить в своєму розвитку три стадії. Перша – індукторна, обумовлена великою кількістю факторів, що індукують апоптоз. Друга – ефекторна, є відносно універсальною та включає в себе каскад послідовних реакцій: поступенева активація каспаз з їхніх неактивних попередників – прокаспаз. Третя, кінцева стадія апоптозу, - стадія деградації. На цій стадії відбуваються морфологічні та біохімічні зміни як в ядрі, так і в цитоплазмі клітин, що відбувається внаслідок дії каспаз на клітинні субстрасти.

При цитофлюориметричному методі дослідження були виявлені клітини на початковій стадії апоптозу завдяки їх здатності зв'язувати аннексин V: метод реєструє зміни мембранної асиметрії фосфатидилсе-

рину (ФС) – його транслокацію із внутрішнього шару плазматичної мембрани в зовнішній. Одночасно реєстрували відсоток некротизованих клітин, забарвлених як аннексином V, так і пропідіум йодидом (АнV+ПЙ+клітини). В даному випадку клітини загинули внаслідок апоптозу. Досліджені нами фрагментація ДНК – прояв кінцевої фази апоптозу – фази деградації, були візуалізовані за допомогою забарвлення за МГРГ морфологічним методом. В результаті нашого дослідження було зареєстровано невеликий відсоток лімфоїдних клітин на різних стадіях спонтанного апоптозу, що збігається з даними літератури [17,18] (табл. 1).

Наступним етапом нашого дослідження стало визначення змін апоптотичних процесів при розвитку алергічного запалення на експериментальній моделі бронхіальної астми у щурів.

При розвитку експериментальної бронхіальної астми у щурів, що була викликана сенсibilізацією до овальбуміну, спостерігалися зміни поведінки тварин. Під час інгаляцій розчину овальбуміну щури були занепокоєні, терли лапами мордочки, чихали.

При цитофлюориметрії відмічено, що на початковій стадії апоптозу (забарвлення АнV+) у порівнянні з інтактною групою вірогідно зросла кількість лімфоцитів, тимоцитів та спленоцитів. Збільшився відсоток АнV+мононуклеарів периферійної крові. Кількість клітин на пізній стадії апоптозу (забарвлення АнV+ПЙ+) вірогідно зменшилася. Відсоток лімфоїдних клітин з конденсацією хроматину та фрагментацією ДНК, що були візуалізовані морфологічним методом, також вірогідно зменшився у порівнянні з інтактною групою (табл. 1).

Таблиця 1.
Зміни різних стадій апоптозу лімфоїдних клітин при розвитку експериментальної бронхіальної астми у щурів та після застосування дезлоратадину та фамотидину

Субпопуляції лімфоїдних клітин	Забарвлення клітин при цитофлюориметричному та морфологічному методах	I група Інтактні щури (n=10)	II група Щури з бронхіальною астмою (n=10)	III група Щури з бронхіальною астмою, яких лікували дезлоратадином (n=10)	IV група Щури з бронхіальною астмою, яких лікували фамотидином (n=10)
Лімфоцити, %	АнV+ПЙ–	7,7±2,2	35,1±16,6 ¹	11,1±6,9 ²	6,0±3,7 ²
	АнV+ПЙ+	2,1±1,9	0,3±0,2 ¹	0,6±0,3 ^{1,2}	1,6±1,2 ²
	МГРГ	9,2±1,8	5,3±1,1 ¹	8,8±1,5 ²	8,6±2,3 ²
Тимоцити, %	АнV+ПЙ–	9,0±3,9	32,9±11,0 ¹	8,3±3,1 ²	5,5±2,6 ²
	АнV+ПЙ+	4,7±4,1	0,3±0,2 ¹	0,4±0,2 ^{1,2}	1,0±0,5 ^{1,2}
	МГРГ	8,0±2,3	4,4±1,5 ¹	6,9±1,3 ²	7,5±2,1 ²
Спленоцити, %	АнV+ПЙ–	11,7±2,0	20,5±13,5 ¹	8,0±1,9 ^{1,2}	4,7±1,8 ^{1,2}
	АнV+ПЙ+	3±2,5	0,2±1,6 ¹	0,6±0,2 ²	1,7±0,7 ²
	МГРГ	10,0±2,5	6,6±0,9 ¹	8,8±1,2 ²	11,2±1,5 ²
МНПК, %	АнV+ПЙ–	11,7±2,8	14,0±6,4	10,5±3,7 ²	5,0±2,1 ^{1,2}
	АнV+ПЙ+	3,8±3,1	0,1±0,2 ¹	0,9±1,5 ^{1,2}	0,8±1,1 ^{1,2}
	МГРГ	10,6±1,9	7,2±1,1 ¹	9,5±1,5 ²	10,1±2,2 ²

Примітка:¹ – вірогідність відмін при порівнянні з апоптозом в інтактній групі, $p \leq 0,05$.

² – вірогідність відмін при порівнянні з апоптозом в групі з БА, $p \leq 0,05$.

Таким чином, розвиток експериментальної бронхіальної астми у щурів призвів до змін апоптотичного процесу всіх субпопуляцій ЛК. Спостерігали збільшення відсотку клітини на початковій стадії апоптозу та вірогідне зменшення відсотку клітин на пізніх стадіях апоптозу.

З літературних джерел відомо, що при АБА відбувається суттєва затримка апоптозу як лімфоцитів, так і нейтрофілів [19]. Феномен затримки апоптозу як лімфоцитів, так і еозинофілів описаний раніше при АБА та при еозинофільному бронхіті [20]. Порушення апоптозу цих клітин чи зростання їх життєздатності вважають важливим, ключовим фактором патогенезу при АБА.

Відомо також, що лімфоцити синтезують широкий спектр біологічно-активних речовин та цитокінів (IL-3, IL-5 та ін.), які сприяють міграції в тканини еозинофілів, що обумовлюють тривалий характер перебігу АБА [21].

Механізми, що лежать в основі затримки апоптозу лімфоїдних клітин при АБА, досі нез'ясовані, але можливо припущення, що при АБА порушується процес між індукторами апоптозу, та факторами, що сприяють виживанню клітин.

Літературні джерела повідомляють, що фрагментація ДНК у лімфоцитів (Лф) хворих БА відбувається

на більш пізніх строках в порівнянні з лімфоцитами донорів, спостерігається у меншого відсотка клітин та корелює зі зниженням рівнів мітохондріального потенціалу (МП) [22]. Досліджено, що Лф з нормальним рівнем МП практично не експресують на своїй поверхні фосфатидилсерин (ФС). Зниження рівнів МП Лф передуює появі ФС на клітинній поверхні [23]. Але припускають, що наявність дефектів в каскаді реакцій відбувається після залучення мітохондрій в процес апоптозу.

Підвищена стійкість ДНК лімфоцитів при БА може бути обумовлена кількісними та якісними змінами в біологічно-активних речовинах (БАР), що вивільняються з мітохондрій після зниження їх трансмембранного потенціалу. До цих речовин відносяться апоптоз-індукуючий фактор, цитохром С, керамід, каспази 2 та 9 та ін. Ці БАР призводять до наступної активації каспаз або безпосередньо викликають апоптотичні зміни клітинного ядра. Враховуючи широкий спектр БАР, що поступають в цитоплазму після підвищення проникливості мітохондріальної мембрани, неможливо точно визначити, який саме дефект лежить в основі підвищеної стійкості Лф до процесів апоптозу. Крім того, більш пізня фрагментація ДНК лімфоцитів при БА може бути обумовлена змінами активності різноманітних типів ДНК-аз, що безпосередньо розщеплюють

ДНК та забезпечують третю, заключну стадію апоптозу – стадію деградації. Вивільнення з мітохондрій апоптогенних факторів, наприклад, цитохрому С, блокується гіперекспресією при БА білка bcl-2 [22,23].

Основним медіатором алергічних реакцій є гістамін – потужний біогенний амін, що виробляється тучними клітинами і базофілами, та регулює чимало подій в імунній відповіді [24]. Гістамін бере участь в регуляції дозрівання клітин імунної системи та змінює їхню активацію, поляризацію, хемотаксис і ефекторні функції. Гістамін індукує декілька систем сигнальної трансдукції: фосфоліпазну та аденилатциклазну, які беруть безпосередню участь в реалізації програм апоптозу лімфоїдних клітин, та реалізує свої функції за допомогою чотирьох субтипів рецепторів [25].

Тому наступним етапом нашої роботи стало з'ясування ролі H_1 - та H_2 -рецепторів в реалізації процесів апоптозу лімфоїдних клітин при атопії шляхом використання селективних блокаторів дезлоратадину та фамотидину.

В результаті застосування дезлоратадину у щурів з БА при цитофлюорометричному аналізі спостерігали вірогідне зменшення відсотку клітин початкової стадії апоптозу (забарвлення ANV^+) у порівнянні з показниками при БА: Л до 11,1 %, Т – до 8,3 %, С – до 8,0 % та МНПК – до 10,5 %, ($p \leq 0,001$). Кількість клітин на пізній стадії апоптозу (забарвлення $ANV+PI^+$) вірогідно зросла: для Л – до 0,6% та С також до 0,6%, ($p \leq 0,05$). Відсоток тимоцитів та МНПК також збільшився, хоча і не достовірно: Т – до 0,4% та МНПК – до 0,9%, ($p \leq 0,2$).

Відсоток клітин з морфологічними ознаками апоптозу – конденсацією хроматину та фрагментацією ДНК – також вірогідно збільшився у порівнянні з показниками в групі з БА: для лімфоцитів в середньому до 8,8%, тимоцитів – до 6,9%, спленоцитів – до 8,8% та МНПК – до 9,5% відповідно.

При порівнянні з інтактною групою цитофлюорометричних показників апоптозу в групі з БА після застосування дезлоратадину з'ясували наступне. Відсоток ЛК (Л, Т та МНПК) на початковій стадії апоптозу вірогідно не відрізнявся від показників в інтактній групі, кількість ANV +спленоцитів була навіть нижчою. Відсоток клітин пізньої стадії апоптозу Л, Т та МНПК залишався вірогідно зниженим в порівнянні з інтактом, і лише відсоток С вірогідно не відрізнявся від інтактної групи. Морфологічні показники апоптозу в групі з БА після застосування дезлоратадину та в інтактній групі вірогідно не відрізнялися (табл. 1).

Доклінічні дослідження дезлоратадину показали, що він пригнічує активність більшості медіаторів, які беруть участь у розвитку алергічного запалення, включаючи цитокіни і хемокіни, а також зменшує експресію молекул адгезії. Відмічено, що дезлоратадин в низьких (мікромолярних) концентраціях пригнічує вивільнення первинних (гістаміну, триптази) та вторинних (простагландину D_2 , лейкотрієну D_4) медіаторів з тучних клітин легень та шкіри людини. Відомо, що під впливом препарату зменшується продукція інтерлейкінів 4, 6, 8, 13, фактору некрозу пухлини α , гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактору мастоцитами та базофілами *in vitro*. Є дані, що дезлоратадин пригнічує вивільнення хемокіну RANTES із епітелію поліпів носу, а також зменшує експресію адгезивних молекул (Р-селектину, ICAM-1)

епітелію дихальних шляхів у хворих бронхіальною астмою [26].

Як відомо, H_1 -рецептор відповідальний за більшість ефектів гістаміну в алергічних реакціях та поєднаний з фосфоліпазою С (PLC). Збудження рецептора веде до PLC-каталітичного гідролізу мембранного інозитид-фосфоліпіда та ініціації біохімічного каскаду, що веде до утворення інозитол-трифосфата (IP_3), активації протеїнкінази С і мобілізації кальція, що закінчується клітинною реакцією. PLC/ IP_3 – це головний шлях, що стимулюється H_1R -активацією, хоча рецептор може активізувати також фосфоліпазу D та фосфоліпазу A_2 .

H_1 -рецептор також активізує транскрипційний фактор NF- κB . Як H_1 -рецепція, так і регуляція цитокінів і адгезивних білків фактором NF- κB задіяні при алергічних станах. Напевно, при таких порушеннях взаємодія H_1 -рецептора з NF- κB -шляхом має важливе фізіологічне значення [27,28].

В чисельних повідомленнях відмічена здатність H_1 -блокаторів зменшувати експресію адгезивних білків, особливо міжклітинних адгезивних молекул 1 (ICAM-1) [29]. Ці результати підтверджують стимулюючий ефект гістаміну та подальше блокування H_1 -інгібіторами активації NF- κB , який зв'язується з ділянками промоторів багатьох генів, серед яких є гени протиапоптозних білків c- $IP_{1/2}$, і таким чином регулює продукцію більшості прозапальних цитокінів та адгезивних білків, включаючи ICAM-1.

Однак помічено, що H_1 -антигістаміни можуть пригнічувати конститутивну активність фактора NF- κB навіть при відсутності гістаміну [27].

Існує думка, що H_1 -блокатори пригнічують передачу Ca^{2+} -залежних сигналів, перешкоджаючи надходженню Ca^{2+} в клітину та пригнічують активність транскрипційних факторів NF-AT, AP-1, що задіяні в синтезі цитокінів. [30].

Таким чином, в результаті застосування дезлоратадину у щурів з БА відмічалися зміни апоптотичного процесу всіх субпопуляцій ЛК. Так % клітин на початковій стадії апоптозу (ANV^+) вірогідно зменшився у порівнянні з показниками при БА та вірогідно не відрізнявся від показників в інтактній групі. Вірогідно збільшився % клітин на пізній стадії ($ANV+PI^+$) та % клітин з морфологічними ознаками апоптозу в порівнянні з показниками при БА. Але при порівнянні з інтактною групою відсоток клітин на пізніх стадіях апоптозу після застосування дезлоратадину залишався вірогідно зменшеним. Отже, дезлоратадин призвів до корекції апоптотичних процесів при БА та наблизив показники до відповідних у здорових щурів. Найбільш чутливими виявилися спленоцити та лімфоцити.

При застосуванні фамотидину у щурів з БА відмічалися наступні зміни апоптотичних процесів ЛК.

При цитофлюорометричному аналізі було зареєстровано вірогідне зменшення відсотку клітин початкової стадії апоптозу (забарвлення ANV^+) у порівнянні з показниками при БА: лімфоцитів в середньому до 6%, тимоцитів – до 5,5%, спленоцитів – до 4,7% та МНПК до 5% ($p \leq 0,001$). Кількість клітин на пізній стадії апоптозу (забарвлення $ANV+PI^+$) вірогідно зросла: для лімфоцитів в середньому до 1,6%, тимоцитів до 1,0%, спленоцитів – до 1,7% та МНПК – до 0,8% ($p \leq 0,001$).

При морфологічному аналізі також вірогідно збільшився відсоток апоптотичних клітин у порівнянні з

показниками в групі з БА: для лімфоцитів в середньому до 8,6%, тимоцитів – до 7,5%, спленоцитів – до 11% та МНПК – до 10% відповідно ($p \leq 0,05$).

При порівнянні з інтактною групою цитофлюориметричних показників апоптозу в групі з БА після застосування фамотидину з'ясували наступне. Відсоток Л та Т на початковій стадії апоптозу вірогідно не відрізнявся від показників в інтактній групі, а кількість АнV+МНПК та АнV+C була навіть нижчою. Відсоток клітин пізньої стадії апоптозу Л та С вірогідно не відрізнялися від інтактної групи, а кількість Т та МНПК залишалася вірогідно зниженою в порівнянні з інтактом. При морфологічному забарвленні за МГРГ показники апоптозу в групі з БА після застосування фамотидину та в інтактній групі вірогідно не відрізнялися (таб. 1).

Дія Н2-блокаторів опосередкована через мембранні структури живих клітин. При цьому спостерігається специфічне блокування ділянок плазматичної мембрани, що сприймають різноманітні стимули. Механізми такої дії проявляються в присутності іонів кальцію [31].

Як відомо, за допомогою іонів кальцію регулюється активність протеїнкінази С – представника родини серін/треонін кіназ, котрій належить провідна роль в реалізації процесів апоптозу. Показано, що активація протеїнкінази С призводить до пізнього фосфорилювання цитоплазматичних та ядерних білків – факторів виживання, що призводить до апоптозу.

З малочисельних літературних джерел стало відомо про гістамін-індукований апоптоз нейтрофілів за участю каспаз та протеїнкінази С [32].

Встановлено, що при значному підвищенні рівня кальцію в клітині активується ендонуклеаза. Фіналом цього процесу є деградація ДНК під дією ендогенних Ca^{2+} та Mg^{2+} -залежних ендонуклеаз [33].

Можливо припущення, що індукція апоптозу фамотидином пов'язана зі змінами концентрації внутрішньоклітинного кальцію та активацією протеїнкінази С, та це потребує подальшого вивчення.

Нещодавно стало відомо про участь Н2 рецепторів в процесах апоптозу. Так, селективні Н2-блокатори циметидін та ранитидін інгібують рост ракових клітин *in vitro*, викликаючи апоптоз в присутності гістаміну [34]. Ранитидін здійснює нейропротекторний ефект, котрий був вивчений *in vitro* на моделі невральної ішемії, викликаній відсутністю кисню та глюкози. Попередня обробка клітин ранитидином ефективно зменшувала кількість некротизованих та апоптотичних клітин, а також активність каспази-3 [35]. Є дані, що Н2-блокатор циметидін викликає порушення сперматогенеза шляхом апоптозу перитубулярних клітин у щурів в експерименті *in vivo* [36].

В нашому попередньому дослідженні було з'ясовано, що селективна блокада Н2-гістамінових рецепторів фамотидином в дозах 0,06 мг/кг, 0,6 мг/кг та 6 мг/кг маси тіла у здорових щурів викликає дозозалежну індукцію апоптозу в усіх субпопуляціях ЛК як на ранніх, так і на пізніх стадіях апоптотичного процесу. При цьому лімфоцити з фракції мононуклеарів периферійної крові виявляються найбільш чутливими до фамотидін-індукованого апоптозу [37]. Тому можна припустити, що рецептори гістаміну беруть безпосередню участь в регуляції процесів апоптозу лімфоїдних клітин за фізіологічних умов та при алергічному запаленні.

Дослідження застосування фамотидину у щурів з БА показали зміни апоптозу на всіх стадіях в усіх субпопуляціях ЛК. Фамотидін призвів до корекції апоптотичних процесів при АБА та наблизив показники до відповідних у здорових щурів. Кількість лімфоцитів на всіх стадіях апоптозу після застосування фамотидину вірогідно не відрізнялася від показників в інтактній групі. Спленоцити та МНПК на початковій стадії виявилися найбільш чутливими.

Таким чином, результати нашого дослідження показали, що при atopічній бронхіальній астмі відбуваються порушення процесів апоптозу ЛК. Збільшується відсоток клітин, що вступають в апоптоз, але безпосередньо процес програмованої загибелі уповільнюється. Застосування Н1- та Н2-блокаторів призводить до корекції апоптотичних процесів при БА. Терапія дезлоратадином призвела до нормалізації показників початкової стадії апоптозу всіх субпопуляцій ЛК та всіх стадій апоптозу спленоцитів. Фамотидін призвів до нормалізації всіх стадій апоптозу лімфоцитів та спленоцитів.

Література

1. Апоптоз лимфоцитов при atopической бронхиальной астме / Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С., Мбаинаджи Л. // Пульмонология.- 2003.- №5.- С.38-44
2. Анализ фармакологических средств на модели апоптоза лимфоцитов человека *in vitro* в норме и при иммунопатологии/ Ковальчук Л.В., Павлюк А.С., Каспаров А.А. и соавт. // Аллергология и иммунология.-2000.- Т.1, №2.-С.24-30
3. Коростовцев Д.С. Дезлоратадин (Эриус) – новый неседативный антигистаминный препарат (высокоselectивный антагонист H_1 -рецепторов) // Аллергология.- 2002.-№1.-С.44-50
4. Емельянов А.В., Тренделева Т.Е. Терапевтические возможности дезлоратадина (Эриуса) у больных аллергическими заболеваниями // Медицинские новости.-2003.-№3.-С.39-42
5. Гуцин И.С. Потенциал противоаллергической активности и клиническая эффективность H_1 -антагонистов // Аллергология.-2003.-№1.-С.37-44
6. Bourinbaier A.S., Fruhstorfer E.C. The effect of histamine type 2 receptor antagonists on human immunodeficiency virus (HIV) replication: Identification of a new class of antiviral agents // Life Sciences .- 1996.- Vol. 59 .- Issue 23.- P. PL365-PL370
7. Nielsen Hans Jorgen. Histamine-2 receptor antagonists as immunomodulators: New therapeutic views? // Ann. Med.-1996.- №2.- P. 107-113
8. Possible role of histamine receptors in the central regulation of immune responses /Moharana A.K., Bhattacharya S.K., Mediratta P.K., Sharma K.K. // Indian J. Physiol. Pharmacol.- 2000.-№ 44.-P.153-160
9. Histamine regulates T-cell and antibody responses by differential expression of H_1 and H_2 receptors / Jutel M., Watanabe T., Klunker S. et al. // Nature.- 2001.- Vol.413.- P.420-425
10. Interleukin-5 deficiency abolishes eosinophilia, airway hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model / Foster P.S., Hogan S.P., Ramsay A.J. et al. // J. Exp. Med.- 1996.- P.183:195
11. A novel T-cell-regulated mechanism modulating allergen-induced airway hyperreactivity in BALB/c mice independently of IL-4 and IL-5 / Hogan S.P., Mattaei K.I., Young I.G., Foster P.S. // J. Immunol.- 1998.- 161:1501
12. Белоусова Е.А., Логинов А.Ф. Возможности блокаторов H_2 -гистаминовых рецепторов в современной гастроэнтерологии // Гастроэнтерология.-2003.- №2
13. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. та ін. / Під ред. Кайдашева І.П.-Полтава: Полімет, 2003.-320с.

14. Green fluorescent protein as a novel tool to measure apoptosis and necrosis / Streebel A., Harr T., Bachmann F. et al. // *Cytometry*. – 2001. – Vol. 43, №2. – P. 126–133.
15. Пилипенко М.І., Книгавко В.Г., Радзішевська Є.Б. Елементи медичної статистики. Лекція 3. Методи параметричної і непараметричної статистики // *Український Радіологічний журнал*. – 2000. – №8. – С.298–302.
16. Кайдашев І.П., Ножинова О.А., Рябенко В.В. Необхідність комплексного підходу до вивчення апоптозу лімфоїдних клітин // *Імунологія та алергологія*. – 2000. – №4. – С.9–15.
17. Регуляція процесів апоптозу тимоцитів пептидами тимуса і нирок за умов дії іонізуючого опромінення / Кайдашев І.П., Рябенко В.В., Ножинова О.А. та ін. // *Проблеми екології та медицини*. – 2003. – Т.7. – №1–2. – С.12–16.
18. Мамонтова Т.В., Кайдашев І.П., Кривонос Т.В. Роль молекул МНС І класу в регуляції апоптозу мононуклеарних клітин периферійної крові хворих на atopічну бронхіальну астму // *Імунологія та алергологія*. – 2004. – №3. – С.10–14.
19. Апоптоз и активность рибосомальных цистронов клеток периферической крови при бронхиальной астме / Минеев В.Н., Нестерович И.И., Оранская Е.С., Тафеев А.Л. // *Аллергология*. – 2003. – №1. – С.15–19.
20. Delayed eosinophil apoptosis in asthma / Kankaanranta H., Lindsay M.A., Gienbycs M.A. et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2000. – Vol. 106. – №1. – P.77–83.
21. Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С. Механизмы апоптоза лимфоцитов периферической крови больных atopической бронхіальною астмою // *Аллергология*. – 2001. – №1. – С.3–9.
22. Спонтанный и глюкокортикоид-индуцированный апоптоз лимфоцитов больных atopической бронхіальною астмою: роль митохондрий и CD95 (APO-1) / Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С., Терещенко Д.В. // *Аллергология*. – 2002. – №1. – С.13–20.
23. Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С. Механизмы дексаметазон-индуцированного апоптоза лимфоцитов при atopической бронхіальною астмою // *Пульмонология*. – 2003. – №2(13). – С.10–16.
24. Akdis C.A., Blaser K. Histamine in the immune regulation of allergic inflammation // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 112. – P.15–22.
25. Church M.K. Histamine receptors, inverse agonism, and allergy // *Allergy Clin. Immunol. Int.* – *J. World Allergy Org.* – 2004. – Vol. 16. – №3. – P.112–116.
26. Kreutner W., Hey J., Chiu P. Preclinical pharmacology of desloratadine, a selective and nonsedating histamine H₁ receptor antagonist. 2nd communication: lack of central nervous system and cardiovascular effects // *Drug Res.* – 2000. – Vol.50(1), №5. – P.441–448.
27. H1-receptor activation of NF-κB: Roles for Gβγ and Gα_{q/11} subunits in constitutive and agonist-mediated signaling / Bakker R.A., Schoonus S., Smit M.J. et al. // *Mol. Pharmacol.* – 2001. – N60. – P.1133–1142.
28. Bakker R.A., Timmerman H., Leurs R. Histamine receptors: specific ligands, receptor biochemistry, and signal transduction // *Clin. Allergy Immunol.* – 2002. – N17. – P.27–64.
29. Effects of fexofenadine and other antihistamines on components of the allergic response: Adhesion molecules / Ciprandi G., Tosca M.A., Cosentino C. et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – N112. – P.S78–S82.
30. Graziano Frank M., Cook Ellen B., Stahl James L. Antihistamines and epithelial cells // *Allergy and Asthma Proc.* – 2000. – № 3. – P. 129–133.
31. Хомерики С.Г., Хомерики Н.М. Скрытые аспекты клинического применения H₂-блокаторов // *Фарматека*. – 2002. – №9. – С. 9–16.
32. Pro-apoptotic effect of high concentrations of histamine on human neutrophils / Hur J., Kang M.K., Park J.Y. et al. // *Int. Immunopharmacol.* – 2003. – Vol. 3. – P.1491–1502.
33. Активность Ca²⁺/Mg²⁺ - зависимой эндонуклеазы как биологического маркера апоптоза при гиперпластических процессах и раке эндометрия / Сухих Т.Г., Серов В.Н., Деметрєва ММ. и др. // *Акушерство и гинекология*. – 2000. – №4. – С.41–45.
34. The effect of H2 antagonists on proliferation and apoptosis in human colorectal cancer cell lines/ Rajendra S., Mulcahy H., Patchett S., Kumar P. // *Dig. Dis. Sci.* – 2004. – Oct;49(10). – P.1634–1640.
35. Histamine H₂-receptor antagonist ranitidine protects against neural death induced by oxygen-glucose deprivation / Malagelada C., Xifro X., Badiola N. et al. // *Stroke*. – 2004. – Oct;35(10). P.2396–401.
36. Cimetidine (Tagamet) is a reproductive toxicant in male rats affecting peritubular cells / Franca L.R., Leal M.C., Sasso-Cerri E. et al. // *Biol. Reprod.* – 2000. – Nov.63(5), P.1403–1412.
37. Ястремська І.А., Кайдашев І.П. Вплив селективного блокатора H₂-гістамінових рецепторів фамотидину на апоптоз лімфоїдних клітин у щурів // *Ліки*. – 2005. – №5–6. – С.45–50.

Summary

INFLUENCE OF DESLORATADINE AND FAMOTIDINE ON THE APOPTOSIS LYMPHOID CELLS IN RATS MODEL OF ATOPIC ASTHMA

Yastremska I.A.

Author Keywords: apoptosis, desloratadine, famotidine, in rats model of atopic asthma, H₁- and H₂-receptor histamine.

The preparations that acts on histamine receptors are broadly using in antiallergic therapy today. Despite of this, effects of histamine receptors blockading in immunoregulations processes are not fully understand, particularly at immune cells apoptosis in physiological conditions and pathology. This study demonstrated the two different stages of spontaneous apoptosis of lymphoid cells (lymphocytes, thymocytes, splenocytes, peripheral blood mononuclear cells) in rats model of OVA-sensitization atopic asthma. Noted, apoptosis was altered in atopic bronchial asthma. The percentage of the cells that involved in apoptosis was increased, but the apoptosis was delayed. It was analyzing apoptosis changes after H₁- and H₂-blockaters applications. Desloratadine and famotidine are modulates different stages of apoptosis. The desloratadine usage resulting in normalization of the earl apoptosis stages for all lymphocytes subpopulations, and for all investigated apoptosis stages of splenocytes. Famotidine followed to normalization of all studying apoptotic stages for lymphocytes and splenocytes.

Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Ukrainian Medical Stomatological Academia, Shevchenko Str., 23, Poltava, 36024

Матеріал надійшов до редакції 15.05.06.

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

© Треумова С.І.

УДК 616.124.3-007.6-002.2

СИСТОЛІЧНА І ДІАСТОЛІЧНА ФУНКЦІЇ МІОКАРДА ПРАВОГО ШЛУНОЧКА У ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ХРОНІЧНОГО ЛЕГЕНЕВОГО СЕРЦЯ В СТАДІЇ ДЕКОМПЕНСАЦІЇ

Треумова С.І.

Вищий державний навчальний заклад України

„Українська медична стоматологічна академія”, м. Полтава

Изучены показатели систолической и диастолической функции миокарда правого желудочка у 30 больных с синдромом хронического легочного сердца в стадии декомпенсации в сравнении с 10 больными хроническим обструктивным бронхитом II степени. Доказано, что у больных легочным сердцем увеличиваются конечный диастолический и систолический размеры правого желудочка, снижается его фракция выброса. Удлиняется время изоволюмической релаксации, снижается раннее диастолическое наполнение при увеличении скорости позднего диастолического наполнения, на что особенно влияет гипоксия.

Ключевые слова: легочное сердце, правый желудочек, систолическая и диастолическая дисфункция, декомпенсация.

Вступ

Хронічне легеневе серце (ХЛС) – це гіпертрофія і (або) дилатація правого шлуночка, яка розвивається внаслідок захворювань (за виключенням серця), пошкоджуючих структуру або тільки функцію легень [1].

Найчастіше ХЛС розвивається на фоні хронічного обструктивного бронхіту (ХОБ), бронхіальної астми (БА), емфіземи легень. У цих хворих поступово із перебігом захворювання підвищується тиск у легеневій артерії, правий шлуночок серця із компенсованої гіперфункції переходить у декомпенсовану. Тому виділяють компенсовану і декомпенсовану стадії перебігу захворювання, розвивається дисфункція роботи правого шлуночка.

Мета роботи – дослідити показники систолічної і діастолічної функції правого шлуночка в період декомпенсації у хворих хронічним легеневим серцем.

Матеріали і методи

Обстежено 30 хворих із синдромом ХЛС в стадії декомпенсації. Чоловіків – 19 (63,3%), жінок – 11 (36,7%) в середньому віці $52,4 \pm 2,2$ роки. Причиною розвитку ХЛС у 21 (70,0%) хворого був ХОБ, у 9 (30,0%) – БА. Хворі з декомпенсованим легеневим серцем були з серцевою недостатністю IIa-IIб, легеневою недостатністю – II-III стадії. Групу порівняння склали 10 хворих на ХОБ II ст. без клінічних та інструментальних ознак ХЛС, середній вік $51,8 \pm 2,0$ роки.

Функціональний стан правого шлуночка серця вивчали з використанням двомірної ехокардіографії та

імпульсної доплер-ехокардіографії (апарат Logiq-500, Німеччина) на базі пульмонологічного відділення Інституту терапії ім. Л.Т. Малої, м. Харків. Оцінювали об'ємні і метричні показники ПШ: кінцевий діастолічний розмір (КДР_{пш}, см), кінцевий систолічний розмір (КСР_{пш}, см), кінцевий діастолічний і систолічний об'єм (КДО_{пш}, мл і КСО_{пш} мл), кінцевий діастолічний і кінцевий систолічний індекси (КДІ мл/м² і КСІ мл/м²), як відношення КДО_{пш} і КСО_{пш} до площі тіла. Вивчали показники діастолічної функції ПШ, як час ізоволюмічного розслаблення (IVRT, с), швидкість раннього (Е, м/с) і пізнього (А, м/с) діастолічного наповнення, їх відношення (Е/А, ум. од.). Також визначали діаметр правого передсердя (ПП), товщину стінки міокарда ПШ в діастолу (ТМПШд, см), градієнт тиску на трикуспідальному клапані (ПП/ПШ, мм рт. ст.). З метою оцінки систолічної функції ПШ визначали максимальну швидкість (V_{\max} , м/с) кровотоку у вихідному потоку крові, а також фракцію викиду (ФВ, %). Одночасно визначали тиск в легеневій артерії по величині систолічного транстрикуспідального градієнта тиску (ΔP , мм рт.ст.) за формулою: $STLA = \Delta P + \text{Тиск в ПП (мм рт. ст.)}$, де $\Delta P = 4VT^2$, а VT – максимальна швидкість потоку транстрикуспідальної регургітації в м/с. Тиск в ПП вираховували залежно від значення градієнта тиску ΔP та ступеня колабування нижньої порожнистої вени під час вдиху [6]. Для оцінки вираженості легеневої гіпертензії використовували її 4 ступені: 1-а – до 50 мм рт. ст., 2-а – від 50 до 75 мм рт. ст., 3-я – від 75 до 100 мм рт. ст. і 4-а – вище 100 мм рт. ст. [2].

Достовірні відмінності показників систолічної і діастолічної функції міокарда ПШ визначали по Ст'юденту, коли $P < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

В результаті дослідження у наших хворих виявлено подовження $IVRT_{ПШ}$ до $0,10 \pm 0,01$ с, у хворих ХОБ II ст. – $0,04 \pm 0,003$ ($P < 0,05$), збільшення пізнього діастолічного наповнення (А) з $0,4 \pm 0,02$ м/с до $0,8 \pm 0,03$ м/с ($P < 0,05$), зменшення раннього систолічного наповнення (Е) з $0,8 \pm 0,04$ м/с до $0,4 \pm 0,03$ м/с ($P < 0,05$) та зниження відношення Е/А, яке склало $0,5 \pm 0,01$ ум. од. Отримані нами показники діастолічного наповнення ПШ відповідають "гіпертрофічному" типу – "relaxation failure", описаному R.A. Nishimura, A.J. Tajik [8] для діастолічного наповнення лівого шлуночка.

Порушення структури діастолічного наповнення ПШ супроводжується дилатацією правого передсердя з $2,25 \pm 0,1$ см у хворих ХОБ до $3,60 \pm 0,2$ см ($P < 0,05$), чому свідчить також КДР_{ПП} ($3,25 \pm 0,06$ см і $3,98 \pm 0,2$ см, $P < 0,05$), що також спостерігали [5].

Ми спостерігали у хворих із синдромом ХЛС також збільшення градієнта тиску ПП/ПШ до $9,9 \pm 0,8$ мм рт. ст., у хворих контрольної групи – $3,5 \pm 0,5$ мм рт. ст. ($P < 0,01$), що також свідчить про порушення структури діастолічного наповнення ПШ, яке, на нашу думку, і привело до збільшення діаметра ПП на $1,4$ см ($P < 0,05$), дилатації ПШ, зменшення товщини його стінки.

У 12 хворих із синдромом ХЛС і стадії декомпенсації ми спостерігали раніше збільшення швидкості раннього діастолічного наповнення, ніж пізнього, а відношення Е/А при цьому було $1,3$. Такий тип наповнення ПШ називають типом "діастолічного наповнення".

Одним із показників систолічної дисфункції ПШ є зниження ФВ_{ПШ}, яке у наших хворих дорівнювало $50,2 \pm 1,2\%$, тоді як у хворих ХОБ – $60,2 \pm 1,2$ ($P < 0,01$).

ФВ ПШ корелює із тяжкістю перебігу ХЛС, на що вказує її значне зниження (до $39,2 \pm 0,9\%$) у хворих при тяжкому ступені перебігу ХОЗЛ.

Розвиток порушень як діастолічного, так і систолічного наповнення ПШ [2, 3, 4, 7] пояснюють дією артеріальної гіпоксії, на що вказує також зниження SaO_2 до $64,3 \pm 1,3\%$ у наших хворих ХЛС, у контрольній групі – $95,5 \pm 1,2\%$ ($P < 0,01$).

Висновки

1. У хворих із синдромом ХЛС в стадії декомпенсації виявляються значні порушення функції міокарда правого шлуночка.

2. Діастолічна і систолічна дисфункція міокарда правого шлуночка в значній мірі більш виражені у хворих із синдромом ХЛС.

Література

1. Гаврисюк В.К., Ячник А.И. Хроническое легочное сердце. – Киев, 1997. – 96 с.
2. Енисеева Е.С., Сизых Т.П. Состояние гемодинамики и диастолическая функция правого желудочка у больных БА // Тер. арх. – 1995. - №8. – С.39-49.
3. Кокосов А.Н., Некласов Ю.Ф., Матковский С.К. Особенности течения легочной гипертензии у больных ХОБ // Тер. арх. – 1988. - №12. – С.124-127.
4. Кудайбердиев З.О. О диагностике гипертрофии правого желудочка при легочном сердце у больных ХБ // Клини. медицина. – 1991. - №5. – С.90-94.
5. Середюк В.М. Оцінка діастолічної і систолічної функції міокарда правого шлуночка у хворих на ХЛС в стадії декомпенсації // Архів клін. медицина. – 2005. - №1. – С.58-62.
6. Шиллер Н., Осипов М.А. Клиническая эхокардиография. – М., 1993. – 347 с.
7. Schena M., Cini E., Errera D. et al. Echo-doppler evaluation of left ventricular impairment in chronic pulmonale chest. – 1996.- Vol. 109.- P. 1446-1451.
8. Nishimura R.A., Tajik A.J. Evaluation of diastolic filling of left ventricle in health and disease: Doppler echocardiography is the clinician's Rosette stone // J. Am/ Coll Cardiol. – 1997. - Vol.30. – P.8-18.

Summary

SYSTOLIC AND DIASTOLIC DISFUNCTION OF RIGHT VENTRICULAR MYOCARDIUM IN PATIENTS WITH CHRONIC PULMONARY HEART SYNDROME UNDER DECOMPENSATION STAGE

Treumova S.I.

Key words: pulmonary heart, right ventricle, systolic and diastolic dysfunction, decompensation.

Systolic and diastolic function parameters of right ventricle have been studied in 30 patients with chronic pulmonary heart syndrome in decompensation stage in comparison with 10 patients having II stage chronic obstructive bronchitis. It has been proved that in patients with pulmonary heart there is the increase of final diastolic and systolic parameters of right ventricle, the decrease of its outlet function. It has been also noticed the raising of isovolumic relaxation time, the decrease of diastolic blood-filling under the rate acceleration of the late diastolic blood-filling which are especially effected with hypoxia.

Ukrainian Ministry of the Health Public Service, Ukrainian Medical Stomatological Academia, Shevchenko Str., 23, Poltava, 36024

Матеріал надійшов до редакції 17.02.06.