

УДК 616-097-02:616.711/.714-001]-092.9

Р.М. Борис<sup>1</sup>, Т.І. Дзецюх<sup>2</sup>**ВПЛИВ КРОВОВТРАТИ НА ДИНАМІКУ ВМІСТУ ЦИТОКІНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ В ПЕРІОД ГОСТРОЇ РЕАКЦІЇ НА КРАНІОСКЕЛЕТНУ ТРАВМУ**<sup>1</sup>ПВНЗ «Київський медичний університет УАНМ» МОЗ України<sup>2</sup>ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

**Резюме.** У періоді гострої реакції на краніоскелетну травму вже через 2 год у травмованих тварин відмічається накопичення про- і протизапальних цитокінів: TNF $\alpha$ , IL-6 та IL-10. Вміст IL-2 підвищується до 12 год посттравматичного періоду. У подальшому вміст досліджуваних цитокінів зменшується, за винятком IL-2, який у травмованих тварин із крововтратою залишався

підвищеним до 24 год експерименту. Характерною рисою динаміки досліджуваних показників у тварин із крововтратою є статистично вірогідно більше зростання TNF $\alpha$  та IL-10 і їх тривалий високий рівень до 12 год експерименту.

**Ключові слова:** краніоскелетна травма, крововтрата, цитокіни, гострий період.

**Вступ.** Травматизм належить до актуальних проблем сьогодення. У результаті травм щорічно у світі помирає 5,8 млн людей [8]. В осіб віком до 40 років смертність від травм перевищує серцево-судинну та онкологічну патологію [5]. Незважаючи на значні успіхи в лікуванні травмованих, при тяжкій краніоскелетній травмі результати продовжують залишатися незадовільними, що зумовлено розвитком травматичної хвороби, патогенез системних порушень при якій залишається недостатньо вивченим.

На сьогодні вважається, що одним із чинників системної відповіді організму на тяжку травму є надмірне утворення в зоні безпосереднього пошкодження прозапальних цитокінів, які, потрапляючи в системний кровотік, є основною причиною розвитку системної відповіді організму на запалення [1]. У свою чергу, це веде до поліорганної дисфункції і недостатності, які вважаються однією з основних причин смерті при тяжкій травмі.

Важливе місце в стимуляції системної відповіді на запалення посідає розвиток гемічної гіпоксії, яка часто супроводжує тяжку травму [3]. Однак у доступній літературі недостатньо даних стосовно закономірності динаміки про- і протизапальних цитокінів у динаміці тяжкої краніоскелетної травми, ускладненої крововтратою, особливо в період гострої реакції, коли формуються основні причинно-наслідкові взаємозв'язки, які визначають подальший перебіг хвороби.

**Мета дослідження.** З'ясувати вплив крововтрати на динаміку вмісту цитокінів сироватки крові в період гострої реакції на краніоскелетну травму.

**Матеріал і методи.** Експерименти використано на 68 нелінійних білих щурах-самцях масою 180-200 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію. Тварин розподілили на три групи. Першу групу склали контрольні (інтактні) тварини (8 особин). Другу – 30 тварин, яким під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг $\times$ кг<sup>-1</sup>) моделювали закриту черепно-мозкову травму за методикою [2] у власній модифікації. Енергія удару становила 0,375 Дж, що відповідало травмі серед-

нього ступеня тяжкості. Крім цього, спеціально розробленим пристроєм наносили удар по кожному стегну, внаслідок якого після однократного впливу викликали закритий перелом стегнових кісток. У третій дослідній додатково моделювали кровотечу зі стегнової вени (20-22 % об'єму циркулюючої крові), 1 мл якої вводили в порожнину живота для відтворення гематоми. З експерименту тварин виводили після наркотизації шляхом тотального кровопускання із серця через 2, 12 та 24 год після травми.

У тварин, які вижили, у сироватці крові визначали концентрацію цитокінів: фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкінів 2 (IL-2), 6 (IL-6) і 10 (IL-10) імуноферментним методом за допомогою набору реагентів фірми «USCN, Life Science Inc», адаптованих до виду піддослідних тварин, на аналізаторі STAT-FAX.

Одержаний цифровий матеріал обробляли у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» у програмному пакеті STATISTICA («StatSoft Inc.», США) з використанням критерію Манна-Уїтні.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Як видно з таблиці, вміст у сироватці крові IL-2 у тварин із краніоскелетною травмою стосовно контрольної групи статистично вірогідно збільшувався через 12 год після травмування – на 16,8 % ( $p < 0,05$ ). Через 24 год даний показник повертався до рівня контрольної групи ( $p > 0,05$ ). В умовах додаткової крововтрати його величина теж істотно зростала порівняно з контрольною групою лише через 12 год після нанесення травми (на 18,0 %,  $p < 0,05$ ) і залишалася на такому ж рівні через 24 год, перевищуючи контроль на 14,5 % ( $p < 0,05$ ). Порівнюючи величину досліджуваного показника між дослідними групами, встановлено, що в усі терміни спостереження істотних відмінностей не було. Відмічалася тенденція до більшої величини даного показника у групі тварин із краніоскелетною травмою і додатковою крововтратою через 24 год після травмування (на 11,2 %,  $p > 0,05$ ). У динаміці показник істотно зростав

Таблиця

**Порушення вмісту цитокінів у сироватці крові в динаміці періоду гострої реакції на краніоскелетну травму (M±m)**

Показник	Конт- роль	Модель травми	Термін посттравматичного періоду		
			2 год	12 год	24 год
IL-2, пг×мл <sup>-1</sup>	10,10± 0,30 (n=8)	краніоскелетна	10,49±0,13 (n=7)	11,80±0,34 <sup>2</sup> (n=6)	10,40±0,49 <sup>2,12</sup> (n=6)
		краніоскелет- на+крововтрата	10,57±0,25 (n=6)	11,92±0,45 <sup>2</sup> (n=5)	11,56±0,39 <sup>*</sup> (n=5)
p			>0,05	>0,05	>0,05
IL-6, пг×мл <sup>-1</sup>	20,08± 1,05 (n=8)	краніоскелетна	31,59±2,02 <sup>*</sup> (n=7)	21,62±1,23 <sup>2</sup> (n=6)	20,40±1,43 <sup>2,12</sup> (n=6)
		краніоскелет- на+крововтрата	26,80±0,92 <sup>*</sup> (n=6)	23,96±0,87 <sup>*</sup> (n=5)	19,42±1,91 <sup>2</sup> (n=5)
p			>0,05	>0,05	>0,05
IL-10, пг×мл <sup>-1</sup>	71,58± 4,09 (n=8)	краніоскелетна	101,9±3,6 <sup>*</sup> (n=7)	73,20±3,63 <sup>2</sup> (n=6)	88,48±2,98 <sup>12</sup> (n=6)
		краніоскелет- на+крововтрата	140,8±8,5 <sup>*</sup> (n=6)	79,76±5,12 <sup>2</sup> (n=5)	73,18±1,99 <sup>2</sup> (n=5)
p			<0,05	>0,05	<0,05
TNFα, пг×мл <sup>-1</sup>	72,87± 3,89 (n=8)	краніоскелетна	86,74±2,91 <sup>*</sup> (n=7)	75,42±2,84 <sup>2</sup> (n=6)	73,34±1,98 <sup>2</sup> (n=6)
		краніоскелет- на+крововтрата	97,88±2,26 <sup>*</sup> (n=6)	84,64±4,87 (n=5)	72,42±2,93 (n=5)
p			<0,05	>0,05	>0,05

Примітка. 1. \* – показники стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p<0,05); 2. p – вірогідність відмінностей між групами травмованих тварин із крововтратою і без крововтрати; 3. <sup>2,12</sup> – відмінності стосовно 2 і 12 год статистично вірогідні (p<0,05)

через 12 год після нанесення травм стосовно попереднього терміну спостереження в обох дослідних групах (p<0,05) та вірогідно знижувався через 24 год стосовно попереднього терміну спостереження тільки у групі тварин без крововтрати (на 11,9 %, p<0,05).

Вміст у сироватці крові IL-6 стосовно контрольної групи істотно збільшувався після нанесення краніоскелетної травми вже через 2 год: на 57,3 % (p<0,05). У подальшому величина даного показника знижувалася (через 12-24 год) й досягла рівня контролю (p>0,05). На тлі додаткової крововтрати вміст у сироватці крові IL-6 порівняно із контролем був підвищеним через 2 і 12 год (відповідно на 33,5 %, p<0,05 і 19,3 %, p<0,05). Через 24 год у цій групі даний показник повертався до рівня контролю (p>0,05).

Порівнюючи дослідні групи, з'ясувалося, що тільки через 2 год відмічалася тенденція до більшої величини досліджуваного показника у травмованих тварин без крововтрати (на 17,9 %, p>0,05). В інші терміни статистично вірогідних відмінностей не виявлено. Аналізуючи динаміку досліджуваного показника, встановлено, що у тварин із краніоскелетною травмою через 12 і 24 год вміст у сироватці крові IL-6 виявився статистично вірогідно нижчим, ніж через 2 год (відповідно на 31,6 і 35,4 %, p<0,05). У травмованих тварин із додатковою крововтратою величина досліджуваного показника була практично

однаковою через 2 і 12 год спостереження. Через 24 год вона знижувалася, проте істотні відмінності спостерігалися тільки стосовно 2 год спостереження (на 27,5 %, p<0,05).

У свою чергу, вміст у сироватці крові IL-10 у тварин із краніоскелетною травмою змінювався хвилеподібно. Через 2 год його величина зростала стосовно контрольної групи на 42,4 % (p<0,05), через 12 год знижувалася, досягаючи рівня контролю (p>0,05), що виявилось статистично вірогідно меншим, ніж через 2 год (на 28,2 %, p<0,05). Через 24 год даний показник знову збільшувався, перевищуючи контрольний рівень на 23,6 % (p<0,05) і попередній термін спостереження – на 20,9 % (p<0,05), проте не досягав величини 2 год спостереження й виявився на 13,2 % меншим (p<0,05).

На тлі додаткової крововтрати вміст у сироватці крові IL-10 досягав максимального рівня через 2 год (на 96,7 %, p<0,05) і в подальшому знижувався. Через 12 год його рівень зменшився стосовно попереднього терміну спостереження на 43,4 % (p<0,05), що продовжувало залишатися істотно більшим, ніж у контролі (на 11,4 %, p<0,05). Через 24 год величина даного показника досягла рівня контролю (p>0,05) й була на 48,0 % меншою, ніж через 2 год (p<0,05). Порівнюючи дослідні групи, з'ясувалося, що через 2 год вміст у сироватці крові IL-10 виявився статистично вірогідно більшим у групі тварин із краніоске-

летною травмою, ускладненою крововтратою (на 38,2 %,  $p < 0,05$ ). Через 12 год величина даного показника між групами порівняння істотно не відрізнялася ( $p > 0,05$ ), через 24 год, навпаки, у тварин тільки із краніоскелетною травмою була істотно більшою (на 20,9 %,  $p < 0,05$ ).

Вміст TNF $\alpha$  після нанесення травми через 2 год у тварин без додаткової крововтрати істотно зростав – на 19,0 % ( $p < 0,05$ ). У подальшому він знижувався й через 12 і 24 год знаходився на рівні контролю ( $p > 0,05$ ), що виявилось статистично вірогідним стосовно 2 год спостереження (відповідно на 13,0 і 15,4 %,  $p < 0,05$ ).

У травмованих тварин із додатковою крововтратою через 2 год досліджуваний показник теж зростав стосовно контрольної групи – на 34,3 % ( $p < 0,05$ ), що виявилось статистично вірогідно більшим, ніж у травмованих тварин без крововтрати (на 12,8 %,  $p < 0,05$ ). У подальшому в цій групі вміст TNF $\alpha$  у сироватці крові теж знижувався, причому тільки через 24 год його величина досягала рівня контролю ( $p > 0,05$ ). Через 12 год посттравматичного періоду його величина мала тенденцію до більшої величини стосовно контролю (на 16,1 %,  $p > 0,05$ ). Через 12 і 24 год після травми відмінності між дослідними групами виявилися неістотними ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, у періоді гострої реакції на травму вже через 2 год відмічається накопичення про- і протизапальних цитокінів: TNF $\alpha$ , IL-6 та IL-10 у травмованих тварин. Вміст IL-2 підвищується через 12 год посттравматичного періоду. У подальшому вміст досліджуваних цитокінів зменшується, за винятком IL-2, який у травмованих тварин із крововтратою залишається підвищеним до 24 год експерименту. На наш погляд, це має важливе компенсаторне значення, оскільки IL-2 здатен самостійно (без попередньої стимулюючої антигенної дії) викликати активацію Т-лімфоцитів і лімфоцитів-кілерів шляхом індукції проліферації. За цих умов активація мононуклеарних фагоцитів супроводжується зростанням інтенсивності респіраторного вибуху, утворенням токсичних для антигенів похідних активованого кисню і оптимізацією процесів переробки і презентації антигенів [4]. Характерною рисою динаміки досліджуваних показників у тварин із крововтратою є статистично вірогідно більше зростання TNF $\alpha$  та IL-10 через 2 год посттравматичного періоду і суттєво вищий від контролю рівень IL-6 до 12 год експерименту.

Отже, у відповідь на травму в гострому періоді відмічається одночасне накопичення як про-, так і компенсаторно-протизапальних цитокінів. Активність їх утворення зростає до 2 год і знижується до 24 год експерименту, проте на тлі крововтрати тривалість їх синтезу подовжується до 12

год. Враховуючи, що IL-6 корелює із тяжкістю пошкоджень при травмі і відображає сумарний ризик смертельного наслідку [6, 7], суттєво більший вміст цього цитокіну в сироватці крові до 12 год експерименту на тлі додаткової крововтрати вказує на більшу тяжкість ураження. Разом з тим, можна припустити, що з 12 до 24 год інтенсифікуються власні компенсаторно-адаптаційні механізми, що варто враховувати як при діагностиці тяжкості ураження, так і виборі методів лікування, збалансованих у часі з механізмами ендогенного саногенезу.

### Висновок

У періоді гострої реакції на краніоскелетну травму вже через 2 год у травмованих тварин відмічається накопичення про- і протизапальних цитокінів: TNF $\alpha$ , IL-6 та IL-10. Вміст IL-2 підвищується до 12 год посттравматичного періоду. У подальшому вміст досліджуваних цитокінів зменшується, за винятком IL-2, який у травмованих тварин із крововтратою залишався підвищеним до 24 год експерименту. Характерною рисою динаміки досліджуваних показників у тварин із крововтратою є статистично вірогідно більше зростання TNF $\alpha$  та IL-10 і їх тривалий високий рівень до 12 год експерименту.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним вважається дослідження цитокінового балансу на тлі гострої крововтрати різної інтенсивності.

### Література

1. Дзюба Д.А. Показатели активации апоптоза в течении политравмы тяжелой степени / Д.А. Дзюба, И.Р. Малыш, Л.В. Згржебловская // Укр. ж. екстрем. мед. ім. Г.О.Можаєва. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 53-58.
2. Ельський В.Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В.Н. Ельський, С.В. Зяблицев. – Донецк: Новый мир, 2008. – 140 с.
3. Надання медичної допомоги постраждалим з політравмою на догоспітальному етапі: методичні рекомендації / [Рошін Г.Г., Гайдаєв Ю.О., Мазуренко О.В. та ін.]. – К., 2003. – 33 с.
4. Основы иммунокоррекции. Иммунотропные препараты / Под ред. И. Д. Столярова. – СПб., 1999. – 48 с.
5. The regional study-group on major injury. Epidemiology of major injury in the population of Friuli Venezia Giulia – Italy / S. Di Bartolomeo, G. Sanson, V. Michelutto [ et al.] // Injury, Int. J. Care Injured. – 2004. – Vol. 35. – P. 391-400.
6. Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care part II: clinical implications / R. S. Jawa, S. Anillo, K. Huntoon [et al.] // J. Intensive Care Med. – 2011. – Vol. 26 (2). – P. 73-87.
7. Is interleukin 6 an early marker of injury severity following major trauma in humans? / F. Gebhard, H. Pfetsch, G. Steinbach [et al.] // Arch Surg. – 2000. – Vol. 135 (3). – P. 291-295.
8. Krug E.G. The Global Burden of Injuries / E.G. Krug, G.K. Sharma, R. Lozano // Am. J. Public Health. – 2000. – Vol. 90. – P. 523-526.

**ВЛИЯНИЕ КРОВОПОТЕРИ НА ДИНАМИКУ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ПЕРИОД ОСТРОЙ РЕАКЦИИ НА КРАНИОСКЕЛЕТНУЮ ТРАВМУ***<sup>1</sup>Р.М. Борис, <sup>2</sup>Т.И. Дзецюх*

**Резюме.** В периоде острой реакции на краниоскелетную травму уже через 2 часа в травмированных животных отмечается накопление про- и противовоспалительных цитокинов: TNF $\alpha$ , IL-6 и IL-10. Содержание IL-2 повышается до 12 ч посттравматического периода. В дальнейшем содержание исследуемых цитокинов уменьшается, за исключением IL-2, который в травмированных животных с кровопотерей оставался повышенным до 24 ч эксперимента. Характерной чертой динамики исследуемых показателей у животных с кровопотерей есть статистически достоверно большее увеличение TNF $\alpha$  и IL-10 и их длительно высокий уровень до 12 ч эксперимента.

**Ключевые слова:** краниоскелетная травма, кровопотеря, цитокины, острый период.

**INFLUENCE OF BLOOD LOSS ON THE CONTENT OF BLOOD SERUM CYTOKINES DYNAMICS IN THE ACUTE REACTION PERIOD TO CRANIO SKELETAL TRAUMA***<sup>1</sup>R.M. Boris, <sup>2</sup>T.I. Dzetsiukh*

**Abstract.** In the period of acute response to cranio skeletal trauma after 2 hours of injured animals accumulation of pro- and anti-inflammatory cytokines was noticed: TNF $\alpha$ , IL-6 та IL-10. The content of IL-2 increased to 12 hours of post-traumatic period. Subsequently, the content of these cytokines is reduced, except for IL-2, which remained elevated up to 24 hours of the experiment in traumatized animals with blood loss. A characteristic feature of the investigated parameters dynamics in animals with blood loss was significantly greater increase in TNF $\alpha$  and IL-10 and their long high level up to 12 hours of the experiment.

**Key words:** cranioskeletal trauma, blood loss, cytokines, acute period.

<sup>1</sup>PHEI «Medical University UANM» MoH Ukraine (Kyiv)

<sup>2</sup>SHEI «Horbachevskiy Ya. State Medical University MoH Ukraine» (Ternopil)

Рецензент – проф. Ю.С. Роговий

Buk. Med. Herald. – 2016. – Vol. 20, № 2 (78). – P. 20-23

Надійшла до редакції 09.03.2016 року