Mahovsky V.P., Osinchuk R.R., Marushchak M.I. Роль цитокіногенезу у розвитку гострого ураження легень = Role of cytokinesis in the development of acute lung injury. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(1):133-138. ISSN 2391-8306. DOI: 10.5281/zenodo.14193
http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%281%29%3A133-138
https://pbn.nauka.gov.pl/works/530304
http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14193
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011 – 2014
http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive

Deklaracja.
Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.
The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).
© The Author (s) 2015;
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 15.09.2014. Revised 18.01.2015. Accepted: 21.01.2015.

Wydział Kultury Fizycznej, Zdrowia i Turystyki UKW w Bydgoszczy
Wydział Nauk Pedagogicznych UMK w Toruniu
Wydział Nauk Ekonomicznych i Zarządzania UMK w Toruniu

Роль цитокіногенезу у розвитку гострого ураження легень
Role of cytokinesis in the development of acute lung injury

Маховський В.П., Осінчук Р.Р., Марущак М.І.
Mahovsky V.P., Osinchuk R.R., Marushchak M.I.

Vasyl Mahovsky m_shvaluk@mail.ru
Roksolana Osinchuk roxolana_os@bigmir.net
Mariya Marushchak m_shvaluk@mail.ru

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»
SHEI Ternopil State Medical University named after I.Ya. Gorbachevsky MOH of Ukraine

Ключові слова: цитокіни, гостре ураження легень, експеримент.

Key words: cytokine, acute lung injury**,** experiment.

Резюме. Метою нашої роботи було оцінити зміни фактору некрозу пухлин-α й інтерлейкіну 1β у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві за умови гострого ураження легень в експерименті. Проведене нами дослідження вказало на хвилеподібні зміни у сироватці крові, тоді як у БАЗ зафіксовано зростання концентрації ФНП-α приблизно у 9 разів протягом всього періоду експерименту ($p<0,001$). Рівень IL–1β зростав на 74,2 % проти контролю в перші 2 год ГУЛ, через 6 год – на 63,5 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 13,3 % проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24 год досліду – на 18,9 % порівняно з попередньої групою. У БАЗ через добу спостереження концентрація IL–1β достовірно збільшилась практично вдвічі, причому відбувалось поступове зростання рівня даного цитокіну впродовж 24 год. Отже, за умови гострого гідрохлоридного ураження легень спостерігається статистично значима взаємозв'язана гіперпродукція прозапальних ФНП-α й IL–1β у бронхоальвеолярному змиві та сироватці крові, що може відігравати важливу роль в ініціації та прогресуванні даної патології внаслідок активації й дегрануляції нейтрофілів та запуску метаболічних каскадних реакцій.

Summary. The aim of the study was to evaluate changes in tumor necrosis factor alpha and interleukin-1β in the serum and bronchoalveolar lavage during acute lung injury in the experiment. Our study was indicated undulating changes in serum, while in the BAL it was observed increase of the TNF- α concentration about 9 times during the whole period of the experiment ($p<0,001$). The level of IL-1β grew by 74,2% compared to control in the first 2 hours of ALI, after 6 hours - by 63,5% relative to the data of the second control group, after 12 hours - by 13,3% against the results of the third experimental group, and after 24 hours - by 18,9% compared to previous group. It was significantly increased the concentration of IL-1β in the BAL by almost twiceafter 24 hours, and the gradual increase in the level of that cytokine was being observed during 24 hours period. So, during hydrochloric-induced acute lung injury we observed statistically significant interrelated hyperproduction of proinflammatory TNF-α and IL-1β in bronchoalveolar lavage and serum, which can play an important role in the initiation and progression of this pathology as a result of activation and degranulation of neutrophils and launching the cascade of metabolic reactions.

Вступ. Цитокіни відносяться до низькомолекулярних білків, які продукуються різними клітинами організму, що володіють різноманітними регуляторними функціями [1]. Найактивніше їх виробляють активовані Т-лімфоцити і макрофаги [2]. Для всіх цитокінів характерна плеотропна дія, оскільки вони діють більше, ніж на одну клітинну мішень, стимулюючи неоднакові процеси (ріст, диференціювання, експресію певних мембранних антигенів) [3]. Цитокіни часто називають клітинними гормонами. Спектри їх біологічних активностей у значній мірі перекриваються: один і той же процес може стимулюватися у клітині більш ніж одним цитокіном [4]. Сукупність цитокінів імунної системи утворює "каскад цитокінів". Антигенна стимуляція призводить до секреції цитокінів "першої хвилі" фактору некрозу пухлин- α (ФНП-α), інтерлейкінів (IL) -1 та -6, які індукують біосинтез центрального регуляторного IL-2, а також IL-3, IL-4, IL-5, ІФН-γ та ін. У свою чергу, інтерлейкіни "другої хвилі" впливають на біосинтез ранніх цитокінів. Такий принцип дії дозволяє не тільки регулювати імунну відповідь, а й ампліфікувати її, залучаючи в реакцію постійно зростаюче число клітин [5].

Важливе значення належить цитокінам у механізмах розвитку гострого ураження легень (ГУЛ) і гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) [5]. Накопичення нейтрофілів та активація макрофагів призводить до виділення прозапальних та протизапальних цитокінів. Патогенетичний баланс між про- та протизапальними цитокінами має вирішальне значення у визначенні результату хвороби, оскільки порушення цитокіногенезу веде до пошкодження епітеліальної цілісності пневмоцитів I типу, які вистеляють альвеоли і беруть участь у газообміні з розвитком дефіциту сурфактанту [6].

Комплекс цитокінів та інших прозапальних сполук ініціює і посилює запальну відповідь при ГУЛ [7]. Прозапальні цитокіни можуть вироблятися місцево в легенях у клітинах запалення, епітеліальних клітинах легень, або фібробластах [8]. Регулювання продукції цитокінів може бути також позалегеневим. Гальмівний фактор макрофагів є регулятором синтезу цитокінів передньою долею гіпофіза, який знаходять у високих концентраціях у рідині бронхоальвеолярнього змиву пацієнтів. Цей цитокін збільшує вироблення прозапальних цитокінів: IL-8 і ФНП-α та може викликати глюкокортикоїд-опосередковане гальмування секреції цитокінів [7].

Зміни при ГУЛ спричинюють дисфункцію ендотеліального бар'єру, активацію нейтрофілів і моноцитів / макрофагів, адгезію молекул експресії і внутрішньоклітинних сигналів протеазами поліморфноядерних нейтрофілів, ФНП-α і моноцитарним хемоаттрактантним білком (MCP)-1 [11]. Ці складні механізми, що лежать в основі ГУЛ, і різноманітність залучених у цей процес клітин, які сприяють зростанню нейтрофілів, адгезії і активації, а також трансдукції сигнальних шляхів, таких як активації тирозин-кінази, місцевої транскрипції ядерного фактора-κβ, експресії запальних генів, були описані в ряді експериментальних досліджень та оглядів літератури [12-14]. Добре відомо, що запальні медіатори відіграють ключову роль у патогенезі ГУЛ.

Тому, **метою нашої роботи** було оцінити зміни фактору некрозу пухлин-α й інтерлейкіну 1β у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві за умови гострого ураження легень в експерименті.

Матеріали та методи. Досліди були проведені на 60 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200-220 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Утримання тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших

наукових цілей". Тварин розділили на 5 груп: 1 - контрольна група, 2 - ураження хлоридною кислотою тривалістю 2 год., 3 - ураження хлоридною кислотою тривалістю 6 год., 4 -ураження хлоридною кислотою тривалістю 12 год., 5 - ураження хлоридною кислотою тривалістю 24 год.

Щурів анестезували внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Вентральну сторону шиї обробляли хлоргексидином і робили 0,5 см серединний розріз для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизотально під кутом 45°, інсуліновим шприцом вводили в трахею HCl, pH 1,2 в дозі 1,0 мл/кг на вдиху. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в дозі 1,0 мл/кг.

Через 2, 6, 12 та 24 годин проводили еутаназію щурів методом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин. Після забою тваринам розкривали грудну клітку і відділяли легенево-серцевий комплекс. Для дослідження використовували сироватку крові та бронхоальвеолярний змив (БАЗ). З легень отримували БАЗ за стандартною методикою. Для визначення ФНП-α й інтерлейкіну 1β (IL-1β) у БАЗ та сироватці крові використовували метод імуноферментного аналізу, застосовуючи тест-системи ТОВ «Укрмедсервіс» (м. Донецьк).

Результати та їх обговорення. Цитокіни пріоритетно діють у вогнищі запалення і на території реагуючих лімфоїдних органів, тому виникає необхідність дослідження інтерлейкінів у БАЗ та крові для вивчення локального та системного характеру запалення. Проведене нами дослідження вказало на те, що у 2-ій дослідній групі в сироватці крові експериментальних тварин спостерігалося достовірне зростання в 4,78 рази ФНП-α, рівень якого вірогідно зменшився у 3,13 рази в 3-ій експериментальній групі і практично не змінювався у 4-тій та 5-тій експериментальних групах. Широкий спектр регуляторної активності ФНП пояснює його появу вже на початкових етапах ГУЛ. На відміну від сироватки крові, у БАЗ зафіксовано зростання концентрації ФНП-α (p1<0,001), приблизно у 9 разів протягом всього періоду експерименту (2, 6, 12 і 24 год) (табл. 1).

Таблиця 1.

Зміна концентрації фактору некрозу пухлин-α у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві в щурів при експериментальному гострому ураженні легень, (M±m)

Показник	Контроль	Експериментальні групи			
		2-га	3-тя	4-та	5-та
	n=12	n=12	n=12	n=12	n=12
ФНП-α, пг/мл (кров)	11,54±0,40	55,15±0,84	17,70±2,21	13,23±2,00	14,339±1,56
p		p_1<0,001	p_2<0,001	$p_{1,2}$>0,05	$p_{1,2}$>0,05
ФНП-α, пг/мл (БАЗ)	1,71±0,13	14,27±0,44	16,21±0,83	15,20±1,09	15,40±1,46
p		p_1<0,001	p_1<0,001	p_1<0,001	p_1<0,001

Примітки: 1. p_1 - різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами; 2. p_2 - різниця достовірна у порівнянні з ураженими тваринами.

На нашу думку, в перші 2 години ФНП зростає в крові як реактивна відповідь на дію гідрохлоридної кислоти, проте ці зміни не відображають патогенетичні механізми ушкодження легень при ГУЛ. Потрібно також зауважити, що в першу добу експериментального ГУЛ концентрація ФНП-α у БАЗ була високою, що, ймовірно,

обумовлене активацією нейтрофілів та запуском метаболічних каскадних реакцій. Отримані результати свідчать про те, що гіперпродукція ФНП-α може відігравати важливу роль в ініціації ГУЛ.

Проведене нами дослідження засвідчило, що вже в перші 2 год ГУЛ рівень IL–1β зростав на 74,2 % проти контролю, через 6 год – на 63,5 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 13,3 % проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24 год досліду – на 18,9 % порівняно з попередньої групою (табл. 2). Натомість через добу концентрація IL–1β збільшилась у 2,6 раза відповідно до 1-ої дослідної групи (табл. 2). Дослідження рівня IL–1β у БАЗ вказало на те, що в перші 2 год ГУЛ зростав на 12,6 %, тоді як через 6 год виявлялось підвищення на 13,9 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 41,2 % проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24 год досліду – на 13,9 % порівняно з попередньої групою. В подальшому, через добу спостереження, концентрація IL–1β у БАЗ достовірно збільшилась практично вдвічі, причому відбувалось поступове зростання даного цитокіну впродовж 24 год (табл. 2).

Таблиця 2.

Зміна концентрації інтерлейкіну–1β у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві в щурів при експериментальному гострому ураженні легень, (M±m)

Показник	Контроль	Експериментальні групи			
		2-га	3-тя	4-та	5-та
	n=12	n=12	n=12	n=12	n=12
IL–1β, пг/мл (кров)	1,59±0,11	2,77±0,22*	4,53±0,16*	5,13±0,16*	6,10±0,20*
p			p<0,001	p<0,05	p<0,01
IL–1β, пг/мл (БАЗ)	2,69±0,16	3,03±0,11	3,45±0,12*	4,87±0,12*	5,55±0,18*
p			p<0,05	p<0,001	p<0,01

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,01), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

Високий рівень IL–1β при HCl-індукованому ГУЛ вказує на його істотну роль у патогенезі даної патології, являючись пусковим фактором регіонарної відповіді організму на дію гідрохлоридної кислоти. При цьому відомо, що для синтезу IL–1β необхідна активація мембранних Toll-like рецепторів або внутрішньоклітинних NLR рецепторів, що супроводжується активацією ядерного фактору транскрипції NF-kB і експресією генів IL-1β й інших прозапальних цитокінів. Активація цих рецепторів супроводжується збільшенням внутрішньоклітинного вмісту каспази-1, яка підвищує секрецію IL–1β у міжклітинний простір. Отже, можна припустити, що підвищений рівень IL–1β обумовлений активацією внутрішньоклітинної кіназної системи і системи факторів транскрипції.

На підставі даних досліджень була висунута гіпотеза, що легені виступають важливим органом продукції цитокінів, а також джерелом їх надходження до системного кровотоку.

Висновок. За умови гострого гідрохлоридного ураження легень спостерігається статистично значима взаємозв'язана гіперпродукція прозапальних ФНП-α й IL–1β у бронхоальвеолярному змиві та сироватці крові, що може відігравати важливу роль в ініціації та прогресуванні даної патології внаслідок активації й дегрануляції нейтрофілів та запуску метаболічних каскадних реакцій.

References

Література

1. Ikpeama L. C. Diffuse alveolar hemorrhage-induced respiratory failure / L. C. Ikpeama, B. K. Bailes // Crit. Care Nurs. Q. – 2012. – Vol. 35, № 2. – P. 124-133.
2. Acute respiratory distress syndrome and acute lung injury / A. Dushianthan, M. P. Grocott, A. D. Postle, R. Cusack // Postgrad. Med. J. – 2011. – Vol. 87, № 1031. – P. 612-622.
3. Khadawardi H. A. Acute respiratory distress syndrome with miliary tuberculosis / H. A. Khadawardi, A. G. Gari // Saudi Med. J. – 2012. – Vol. 33, № 1. – P. 83-86.
4. Use of two oxygenators during extracorporeal membrane oxygenator for a patient with acute respiratory distress syndrome, high-pressure ventilation, hypercapnia, and traumatic brain injury / G. Leloup, H. Rozé, J. Calderon, A. Ouattara // Br. J. Anaesth. – 2011. – Vol. 107, № 6. – P. 1014-1015.
5. Blank R. Epidemiology of ARDS and ALI / R. Blank, L. M. Napolitano // Crit. Care Clin. – 2011. – Vol. 27, № 3. – P. 439-458.
6. Chemically modified tetracycline 3 prevents acute respiratory distress syndrome in a porcine model of sepsis + ischemia/reperfusion-induced lung injury / S. K. Roy, B. D. Kubiak, S. P. Albert [et. al.] // Shock. – 2012. – Vol. 37, № 4. – P. 424-432.
7. Acute pulmonary injury induced by experimental muscle trauma / M. A. Sombra, M. P. Vasconcelos, S. B. Guimaraes [et al.] // Acta Cir. Bras. – 2011. – Vol. 26, Suppl. 1. – P. 43-46.
8. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study / C. Brun-Buisson, C. Minelli, G. Bertolini [et al.] // Intensive Care Med. – 2004. – Vol. 30, № 1. – P. 51-61.
9. Incidence of acute lung injury in the United States / C. H. Goss, R. G. Brower, L. D. Hudson [et al.] // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31, № 16. – P. 1607-1611.
10. Vincent J. L. Why do patients who have acute lung injury/acute respiratory distress syndrome die from multiple organ dysfunction syndrome? Implications for management / J. L. Vincent, M. Zambon // Clin. Chest Med. – 2006. – Vol. 27, № 4. – P. 725-731.
11. Wheeler A. P. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: a clinical review / A. P. Wheeler, G. R. Bernard // Lancet. – 2007. – Vol. 369, № 9572. – P. 1553–1564.
12. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study / C. Brun-Buisson, C. Minelli, G. Bertolini [et al.] // Intensive Care Med. – 2004. – Vol. 30, № 1. – P. 51–61.
13. Incidence of acute lung injury in the United States / C. H. Goss, R. G. Brower, L. D. Hudson [et al.] // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31, № 16. – P. 1607–1611.
14. Vincent J. L. Why do patients who have acute lung injury/acute respiratory distress syndrome die from multiple organ dysfunction syndrome? Implications for management / J. L. Vincent, M. Zambon // Clin. Chest Med. – 2006. – Vol. 27, № 4. – P. 725–731.