

UDC 615.45+616.8.001.4.002

The INFLUENCE NANODISPERSIVE FERROMAGNETIC PULVERES GEL of DEVELOPMENT WOUND PROCESS of TRIATMENT EXPERIMENTAL WOUND**Kryzyna P.S., Pysmennaj E.V., Sysov A.S., Lesovoj D.A., Kusnecov N.J.**

Summary. Experimental study of NDFMG "utilization for treatment of infected wounds was performed in 30 white rats (180-220 g). Established what creation medical agency manifestation within always time medical treatment protective, sorption, antimicrobial and stimulative affect. They safe when application and volunteer allergy and different. Owing to clarity possibility guide look on alter condition wound and current wound process. This give possibility recommend to application clinical practice to local treatment infected wound genial fabric populy drift all wound process without apply another curative facility. Application NDFMG peerment improvement efficacy local treatment infected wound genial fabric and 3 one abbreviation cost and duration course treatment.

Key words: wounds, wounds process, nanodispersive ferromagnetic pulver, gel.

Стаття надійшла 11.05.2010 р.

УДК 616.831-005.1.-036.11.-07:616.155.3-097.37-07

А.С. Кость

**ДИНАМІКА ЗМІН ЦИТОКІНІВ У ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ
ВНУТРІШНЬОМОЗКОВОГО КРОВОВИЛИВУ****Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького (м. Львів)**

Наукове дослідження є частиною комплексної планової науково-дослідної роботи "Ураження нервової системи різного генезу" (ІН.26.02.0001.05).

Вступ. Мозкові інсульти є однією з найбільш частих за інші причини інвалідності та смертності серед населення і посідають провідне місце у структурі судинних захворювань головного мозку. При геморагічному характері мозкового інсульту летальні випадки сягають 75—90%. Після внутрішньомозкового крововиливу тільки 38% пацієнтів виживають на перший рік, а із залишившись в живих близько 31% стають функціонально незалежними через 3 місяці з моменту розвитку захворювання [1,2,4].

Однією із важливих ланок у патогенезі внутрішньомозкового крововиливу є участь запальних механізмів в пошкодженні мозку [3,7]. При внутрішньомозковому крововиливі компоненти крові, включаючи головним чином еритроцити, лейкоцити, макрофаги та білки плазми (тромбін, плазмін та ін.) безпосередньо попадають у мозок. Запальна відповідь виникає негайно, внаслідок ферментної активації, міграції запальних клітин, активації глії. Активована мікроглія розпочинає продукувати широкий спектр токсичних для нервової тканини сполук, в тому числі, цитокінів [14].

Експериментальні дослідження на моделях внутрішньомозкового крововиливу виявили підвищення експресії цитокінів [5,13], зокрема інтерлейкіну 1-бета, фактору некрозу пухлин-альфа. Однак, є також дані, які свідчать про підвищення плазматичних рівнів інтерлейкіну-6, фактору некрозу пухлин-альфа, протизапального цитокіну інтерлейкіну-10 у хворих із внутрішньомозковим крововиливом на першу добу з моменту розвитку захворювання [6,8].

Однак немає даних про зміну продукції цитокінів в динаміці гострого періоду внутрішньомозкового крововиливу, хоч відомо, що імунний статус організму нормалізується не зразу і не завжди [12].

Метою роботи було вивчення рівня прозапальних і протизапальних цитокінів в динаміці гострого періоду внутрішньомозкового крововиливу в залежності від тяжкості неврологічних порушень.

Об'єкт і методи дослідження. Обстежено 32 пацієнта, які поступили в клініку на першу добу з моменту розвитку внутрішньомозкового крововиливу, із них 15 (46,9%) чоловіків і 17 (53,1%) жінок. Вік хворих був в межах 48 до 83 років (в середньому 66,7±1,9). Клінічний діагноз формували на підставі анамнестичних даних, суб'єктивної і об'єктивної неврологічної симптоматики, а також ре-

зультатів інструментальних (ком'ютерної томографії головного мозку) та лабораторних методів дослідження у відповідності до міжнародної класифікації хвороб 10-го перегляду. Ступінь тяжкості неврологічних порушень оцінювали за допомогою шкали NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) [10]. Було виділено 2 групи хворих з різним ступенем тяжкості неврологічних порушень. І-шу групу склали 18 пацієнтів з неврологічними порушеннями середнього ступеня тяжкості (сумарний клінічний бал по шкалі склав $10,78 \pm 0,25$), II-групу склали 14 пацієнтів з неврологічними порушеннями важкого ступеня тяжкості (сумарний клінічний бал по шкалі склав $14,36 \pm 1,13$). В обстеження не були включені особи з гострими запальними, нейродегенеративними і аутоімунними захворюваннями, а також пацієнти з черепно-мозковою травмою і пухлинним процесом. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб відповідного віку і статі.

Для визначення рівня цитокінів зразки цільної крові центрифугували при 3000 об/

хв. протягом 5хв, сироватку крові заморожували і зберігали до аналізу при температурі -70° . Визначення рівня цитокінів, а саме інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), фактору некрозу пухлин-альфа (ФНП- α), інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) в сироватці крові проводили на початку (на 1-у добу), в середині (на 10-у добу) та в кінці (на 21-у добу) гострого періоду захворювання за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-систем фірми «Diacor» (Франція) згідно прилеглих інструкцій.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою пакету прикладних програм «Statistica 6,0» (Statsoft, USA).

Результати досліджень та їх обговорення. На першу добу від моменту розвитку внутрішньомозкового крововиливу у групах хворих із середнім та тяжким ступенем неврологічних порушень спостерігалось достовірне ($p < 0,05$) підвищення середніх рівнів цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α , ІЛ-10) порівняно із контрольними значеннями (табл.1).

Таблиця 1

Рівень цитокінів (в пг/мл) на першу добу від моменту розвитку внутрішньомозкового крововиливу ($M \pm m$)

	Контроль	Ступінь тяжкості неврологічних порушень за шкалою NIHSS	
		середній $n=18$	тяжкий $n=14$
ІЛ-1 β	$4,86 \pm 0,9$	$17,81 \pm 2,18^*$	$19,69 \pm 2,23^*$
ІЛ-6	$5,87 \pm 0,49$	$20,72 \pm 1,64^*$	$27,12 \pm 2,45^{**}$
ФНП- α	$4,97 \pm 1,18$	$19,5 \pm 2,14^*$	$26,46 \pm 2,71^{**}$
ІЛ-10	$1,56 \pm 0,24$	$4,67 \pm 0,76^*$	$4,73 \pm 0,67^*$

Примітка: * - вірогідність різниці показника порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$); ** - вірогідність різниці показника порівняно з середнім ступенем неврологічних порушень ($p < 0,05$).

Підвищення рівня цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α , ІЛ-10) в периферичній крові зумовлено синтезом їх активованою мікроглією і клітинами імунної системи, мобілізованими із загальної циркуляції до вогнища запалення. Це вказує на те, що після внутрішньомозкового крововиливу зростає проникність ГЕБ і також участі цитокінів периферичного походження в запальній відповіді при даному захворюванні [11].

Проведений аналіз між групами в залежності від тяжкості неврологічних порушень виявив, що середній вміст ІЛ-6, ФНП- α при важкому ступені неврологічних порушень на першу добу достовірно вищий, ніж при середньому ($p < 0,05$). Водночас середні рівні ІЛ-1 β , ІЛ-10 між групами за ступенем тяжкості не-

врологічних порушень достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$).

На 10-у добу від моменту розвитку внутрішньомозкового крововиливу у групах хворих із середнім та тяжким ступенем неврологічних порушень зберігався достовірно ($p < 0,05$) високий рівень цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α , ІЛ-10) порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Це може свідчити про подальшу активацію мікроглії, яка може зберігатися протягом 4 тижнів після виникнення інсульту з піком на 3-7 день [7,15].

На 21-у добу спостерігалось зниження вмісту ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α у даних групах хворих до рівня контрольної ($p > 0,05$), крім вмісту протизапального цитокіну ІЛ-10, де зберігався достовірно вищий рівень ($p < 0,05$) (табл.2).

Таблиця 2

Динаміка змін рівнів цитокінів (в пг/мл) при внутрішньомозковому крововиливі (М±м)

	Контроль	Ступінь тяжкості неврологічних порушень за шкалою NIHSS			
		Середній		Тяжкий	
		10-доба	21-доба	10-доба	21-доба
ІЛ-1β	4,86±0,9	13,04±1,3*	4,21±0,35	18,0±2,01*	5,66±0,54
ІЛ-6	5,87±0,49	15,43±1,96*	6,8±0,74	24,55±2,44*	7,26±0,61
ФНП-α	4,97±1,18	14,6±1,69*	6,13±0,86	25,75±3,27*	8,31±1,2
ІЛ-10	1,56±0,24	4,61±0,72*	4,23±0,57*	4,14±0,68*	3,91±0,73*

Примітка: * - вірогідність різниці показника порівняно з контрольною групою (p<0,05).

Динаміка змін рівнів цитокінів при внутрішньомозковому крововиливі показала, що у хворих із середнім ступенем неврологічних порушень концентрація ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП-α достовірно зменшувалась з 1-ої по 10-у добу та з 10-ої по 21-у добу (p< 0,05). У разі тяжких неврологічних розладів достовірної різниці змін рівнів даних цитокінів з 1-ої по 10-у добу не спостерігалось (p>0,05), а відбувалось лиш достовірне зменшення концентрації з 10-ої по 21-у добу (p< 0,05). Зменшення концентрації прозапальних цитокінів (ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП-α) на 10 добу від моменту розвитку внутрішньомозкового крововиливу порівняно із першою добою свідчить про відсутність прогресування запальної відповіді у хворих із середнім ступенем неврологічних порушень, що імовірно, вказує на сформований об'єм пошкодження мозкової тканини, на відміну від хворих з тяжким ступенем неврологічних порушень, де динаміка змін рівнів відповідних цитокінів між 1-ою та 10-ою добою не спостерігалось, що можливо пов'язано з подальшим формуванням гематоми протягом раннього перебігу захворювання і відповідно об'ємом пошкодження мозкової тканини в цій групі хворих. Оскільки ріст гематоми взаємопов'язаний з молекулярними механізмами судинного пошкодження, зокрема і маркерами запалення [9].

Динаміки змін вмісту протизапального цитокіну ІЛ-10 у групах хворих між 1-ою та 10-ою добою, а також між 10-ою та 21-ою добою не спостерігалось (p> 0,05), що може свідчити про активацію факторів захисту протягом всього гострого періоду захворювання.

Висновки.

1. При запальній відповіді на першу добу від моменту розвитку внутрішньомозкового крововиливу підвищується концентрація прозапальних та протизапальних цитокінів (ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП-α, ІЛ-10) в сироватці крові. Дані маркери запалення залишаються підвищеними і на 10-у добу від моменту розвитку за-

хворювання, а рівень протизапального цитокіну ІЛ-10 також на 21-у добу.

2. Тяжкий клінічний перебіг захворювання асоціюється з високим рівнем ІЛ-6, ФНП-α в сироватці крові на 1-шу добу з моменту розвитку внутрішньомозкового крововиливу, що може служити додатковим діагностичним критерієм для оцінки ступеня неврологічних порушень у хворих із внутрішньомозковим крововиливом.
3. У хворих з тяжким ступенем неврологічних порушень динаміка змін рівнів цитокінів (ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП-α) між 1-ою та 10-ою добою не спостерігається, на відміну від хворих з середнім ступенем неврологічних порушень, де відбувається спад концентрації відповідних цитокінів, що імовірно пов'язано із формуванням об'єму пошкодження мозкової тканини.

Перспективи подальших досліджень. В подальших дослідженнях викликає інтерес вивчення взаємозв'язку змін рівня цитокінів від об'єму пошкодження мозкової тканини при внутрішньомозковому крововиливі, як імовірного одного з факторів, який визначає ступінь розвитку запальної відповіді та тяжкості неврологічних порушень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Василенко Є. Інсульт: сучасні погляди на проблему / Є. Василенко, О. Ярош, Л. Остапченко // Вісн. НАН України. – 2007. - № 5. – с.29-34
2. Міщенко Т.С. Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні у 2007 році / Т.С. Міщенко // Судинні захворювання головного мозку. – 2008. - № 2. – с. 3-7.
3. Aronowski J. New horizons for primary intracerebral hemorrhage treatment: experience from preclinical studies / J. Aronowski, C.E. Hall // Neurol Res. – 2005. - Vol. 27. – P. 268–279.
4. Brown D.L. Stopping the bleeding in intracerebral hemorrhage / D.L. Brown, L.B. Morgenstern // N. Engl. J. Med. – 2005. - Vol. 352, № 8. – P. 828–830.
5. Delayed profound local brain hypothermia markedly reduces interleukin-1β gene expression and vasogenic edema development in a porcine model of intracerebral hemorrhage / K.R. Wagner, S. Beiler, C. Beiler et al. // Acta Neurochir. – 2006. - Suppl 96. – P. 177–182.

6. Intracerebral hemorrhage triggers interleukin-6 and interleukin-10 release in blood / T. Dziedzic, S. Bartus, A Klimkowicz et al. // *Stroke*. - 2002. - Vol. 33. - P. 2334-2335.
7. Gong C. Acute inflammatory reaction following experimental intracerebral hemorrhage in rat / C. Gong, J.T. Hoff, R.F. Keep // *Brain Res.* - 2000. - Vol. 871. - P. 57-65.
8. Molecular signatures of brain injury after intracerebral hemorrhage / J. Castillo, A. Davalos, J. Alvarez-Sabin et al. // *Neurology*. - 2002. - Vol. 58. - P. 624-629.
9. Molecular signatures of vascular injury are associated with early growth of intracerebral hemorrhage / Y. Silva, R. Leira, J. Tejada et al. // *Stroke*. - 2005. - Vol. 36, N 1. - P. 86-91.
10. Odderson I.R. The National Institutes of Health Stroke Scale and its importance in acute stroke management / I.R. Odderson // *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* - 1999. - Vol.10, №4. - P. 787-800.
11. Prognostic significance of blood brain barrier permeability in acute hemorrhagic stroke / Y. Lampl, O. Shmuelovich, J. Lockman et al. // *Cerebrovasc Dis.* - 2005. - Vol. 20. - P. 433-437.
12. Tan K.T., Lip G.Y., Blann A.D. Post-stroke inflammatory response: effects of stroke evolution and outcome // *Curr. Atheroscler. Rep.* - 2003. - №5. - P.245-251.
13. Tumor necrosis factor-[alpha] increases in the brain after intracerebral hemorrhage and thrombin stimulation / Y. Hua, J. Wu, R. Keep et al. // *Neurosurgery*. - 2006. - Vol. 58, Issue 3. - P. 542-550.
14. Wang J. Contribution of extracellular proteolysis and microglia to intracerebral hemorrhage / J. Wang, S.E. Tsirka // *Neurocrit Care.* - 2005a. - Vol. 3. - P. 77-85.
15. Xue M. Intracerebral injection of autologous whole blood in rats: time course of inflammation and cell death / M. Xue, M.R. Del Bigio // *Neurosci Lett.* - 2000a. - Vol. 283. - P. 230-232.

УДК 616.831-005.1.-036.11.-07:616.155.3-097.37-07

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ЦИТОКИНОВ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ВНУТРИМОЗГОВОГО КРОВОИЗЛИЯНИЯ

Кость А.С.

Резюме. Проведено определение уровня цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-10) у пациентов с внутримозговым кровоизлиянием на 1-ю, 10-ю, 21-е сутки от момента развития заболевания. Показано, что повышение уровня цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) наблюдается на 1-ю, 10-е сутки, а противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в течение всего острого периода заболевания. Тяжелое клиническое течение заболевания ассоциируется с высоким уровнем ИЛ-6, ФНО- α в сыворотке крови на 1-е сутки. У больных с тяжелой степенью неврологических нарушений динамики изменений уровня цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-10) между 1-й и 10-й сутками не наблюдается, что указывает на сохранение активности воспалительного ответа.

Ключевые слова: воспаление, внутримозговое кровоизлияние, цитокины

UDC 616.831-005.1.-036.11.-07:616.155.3-097.37-07

DYNAMIC CHANGES of CYTOKINES in the ACUTE PERIOD of INTRACEREBRAL HEMORRHAGE

Kost A.S.

Summary. The investigation of the level of cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10) in patients with intracerebral hemorrhage on 1st, 10th, 21st day from the onset of disease. Shown that increased the level of cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α) is observed on 1st, 10th day and anti-inflammatory cytokine IL-10 throughout the acute period of illness. Severe clinical course of disease associated with high levels of IL-6, TNF- α in serum of first day. In patients with severe neurological disorders, changes to the level of cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10) between the 1st and 10th day is not observed, indicating preservation activities inflammatory response.

Key words: inflammation, intracerebral hemorrhage, cytokines.

Стаття надійшла 22.03.2010 р.