

ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Трофименко А.И., Каде А.Х., Левичкин В.Д., Нехай Ф.А., Занин С.А.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, Россия (350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4), zanin77@mail.ru

Проблема терапии ишемического инсульта наиболее актуальная в современной медицине. Этот факт диктует необходимость создания адекватных экспериментальных моделей данной нозологии для адекватного её изучения. В работе создана модель церебральной ишемии у лабораторных крыс, на которой был оценен уровень провоспалительных цитокинов и β -эндорфина в сравнении с контрольной группой животных. Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах, которые были разделены случайным образом на 2 группы: 1 – контрольная группа и 2 – группа с моделированием ишемического инсульта. В сыворотке крови на 1, 3, 7 и 14 сутки наблюдения определяли фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-1 β , интерлейкин-6 и β -эндорфин. В результате проведенного исследования установлено, что системный воспалительный ответ более выражен во 2 группе крыс. Данный факт свидетельствует о необходимости поиска безопасных и рентабельных методов комплексного лечения ишемического инсульта.

Ключевые слова: ишемический инсульт, провоспалительные цитокины, ТЭС-терапия.

THE STATUS CYTOKINES LOUDSPEAKER AT RATS WHEN MODELLING THE ISCHEMIC STROKE

Trofimenko A.I., Kade A.K., Levichkin V.D., Nekhaj F.A., Zanin S.A.

Kuban state medical university of the Ministry of Health Care of the Russian Federation, Krasnodar, Russia (350063, Krasnodar, Sedina street, 4), zanin77@mail.ru

Problem of therapy of an ischemic stroke the most actual in modern medicine. This fact dictates need of creation of adequate experimental models of this nosology for its adequate studying. In work the model of cerebral ischemia at laboratory rats on which level pro-inflammatory cytokines and β -endorphins in comparison with control group of animals was estimated is created. Experiments are made on 50 rats males who were divided in a random way into 2 groups: 1 – control group and 2 – group with modeling of an ischemic stroke. In blood serum for 1, 3, 7 and 14 days of supervision defined a tumor necrosis factor- α , interleykin-1 β , interleykin-6 and β -endorphin. As a result of the conducted research it is established that the system inflammatory answer is more expressed in the 2nd group of rats. This fact testifies to need of search of safe and profitable methods of complex treatment of an ischemic stroke.

Keywords: ischemic stroke, pro-inflammatory cytokines, TES-therapy.

Введение. Ишемический инсульт (ИИ) - острое нарушение мозгового кровообращения с развитием стойких симптомов поражения, вызванных инфарктом в вещество мозга [1]. Среди современных медико-социальных проблем ИИ занимает одно из ведущих мест. Рост числа инсультов среди трудоспособного населения нашей страны является на данный момент одним из самых острых вопросов отечественного здравоохранения. В Российской Федерации заболеваемость инсультом среди лиц старше 25 лет составила $3,48 \pm 0,21$, смертность от инсульта $1,17 \pm 0,06$ на 1000 населения в год [2].

В настоящее время известно, что единый организованный ответ на острую церебральную ишемию осуществляется путем взаимодействия нервной, иммунной и

эндокринной систем, использующих для этого сходные сигналы (нейротрансмиттеры, цитокины, факторы роста, гормоны) и действующих на сходные рецепторы [2].

В связи с вышеизложенным целью исследования была оценка динамики провоспалительных цитокинов при моделировании ишемического инсульта у лабораторной крысы.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 50 белых нелинейных крысах-самцах средней массой 250 ± 50 г, средний возраст которых колебался от 9 месяцев до 1 года. Операции выполнялись под общим золетил-ксилазиновым наркозом. Моделирование острой локальной церебральной ишемии выполнялось путем коагуляции правой средней мозговой артерии (ПСМА) [5; 6]. Животные были разделены на 2 группы: 1 группа (контрольная) ($n=10$) - крысы, операция которым не выполнялась; 2 группа ($n=40$) - крысы, которым выполнялась коагуляция ПСМА.

Забор крови и оценку уровня провоспалительных цитокинов и β -эндорфина во всех группах животных проводили на 1, 3, 7 и 14 сутки. В сыворотке крови исследуемых животных определяли уровень провоспалительных цитокинов: ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и β -эндорфинов методом иммуноферментного анализа. Количественное определение ФНО- α и ИЛ-1 β проводили с помощью набора «Ray Biotech, Inc.» (Германия), количественное определение ИЛ-6 проводили иммуноферментным методом с помощью набора «Cusabio Biotech Co., Ltd» (Китай). Количественное определение β -эндорфина проводили иммуноферментным методом с помощью набора «Elabscience Biotechnology Co., Ltd» (Китай). Исследования проведены на базе центральной научно-исследовательской лаборатории Отдела клинической экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии ГБОУ ВПО «КубГМУ» Минздрава России.

Результаты исследования и их обсуждение. Проведен анализ уровней ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-6 и β -эндорфина в сыворотке крови крыс группы контроля и группы с моделированным ИИ.

В 1 контрольной группе уровень ФНО- α составил $8,42\pm 2,54$ пг/мл. При моделировании ИИ в 1 сутки во 2 группе животных содержание ФНО- α достоверно ($p\leq 0,05$) возрастало и составило $17,83\pm 11,32$ пг/мл. При этом уровень β -эндорфина у животных этой группы снижался достоверно ($p\leq 0,01$) по отношению к животным группы контроля (в 2,1 раза). Это свидетельствует о выраженности системного воспалительного ответа (СВО) уже в 1 сутки ишемического повреждения мозга. Весь период наблюдения за животными (14 суток) уровень этого цитокина в сыворотке крови оставался повышенным. Так, на 3 сутки наблюдения в сыворотке он составил $18,36\pm 7,2$ пг/мл, что было достоверно ($p\leq 0,05$) выше по отношению к животным контрольной группы. На 7 сутки наблюдения уровень ФНО- α был

17,83±3,3,79 пг/мл, эти изменения достоверны ($p \leq 0,05$) по отношению к животным группы контроля (уровень был увеличен в 2,1 раза). И на 14 сутки его уровень достоверно не изменялся, но оставался достоверно ($p \leq 0,05$) выше, чем в группе контроля. При этом уровень β -эндорфина у животных этой группы на 14 сутки составил 9,63±3,02 пг/мл, что было достоверно ($p \leq 0,01$) ниже (в 2,9 раза) по отношению к животным группы контроля.

Уровень ИЛ-1 β у животных контрольной группы составил 30,93±7,9 пг/мл. На 1 сутки после моделирования ИИ его содержание достоверно ($p \leq 0,01$) возросло по отношению к животным контрольной группы до 464,61±127,74 пг/мл. Это ассоциировалось со снижением уровня β -эндорфина в этой же группе в тот же срок наблюдения, что свидетельствует о выраженности СВО уже в 1 сутки ИИ. На 3 сутки у животных этой группы содержание ИЛ-1 β составило 1799±586,25 пг/мл, что было достоверно ($p \leq 0,01$) выше, чем у животных контрольной группы и его содержания в 1 сутки наблюдения. На 7 и 14 сутки его уровень несколько снижался, хотя и сохранялся на высоких цифрах. Так, на 7 сутки он составил 623,09±56,97 пг/мл ($p \leq 0,05$), а на 14 сутки – 407,73±125,35 пг/мл ($p \leq 0,01$). Таким образом, содержание ИЛ-1 β на 14 день снизилось до уровня 1 суток, но все же уровень этого цитокина остался достаточно высоким весь период наблюдения. Данная динамика уровня ИЛ-1 β указывает на выраженность СВО в течение всего периода наблюдения за животными и ассоциируется со сниженным уровнем β -эндорфина.

В тех же группах животных проведен анализ динамики уровня ИЛ-6 в сыворотке крови. В 1 контрольной группе животных его уровень составил 0,43±0,17 пг/мл. В 1 сутки после моделирования ИИ содержание ИЛ-6 возрастало, достигая 6,87±1,93 пг/мл, что было достоверно ($p \leq 0,01$) выше его уровня в 1 контрольной группе животных. На 3 сутки рост содержания этого цитокина продолжался, и его уровень достигал 10,38±1,91 пг/мл. Это изменение было достоверно ($p \leq 0,05$) по отношению к 1 контрольной группе животных и по сравнению с 1 сутками. На 7 и 14 сутки уровень ИЛ-6 во 2 группе животных оставался повышенным - 11,52±2,73 пг/мл ($p \leq 0,01$) и 10,21±2,83 пг/мл соответственно, что было достоверным ($p \leq 0,05$) по отношению к 1 контрольной группе животных. Колебания его содержания на 7 и 14 сутки после моделирования ИИ были недостоверны по отношению к 3 суткам. Необходимо отметить, что в этой группе животных уровень β -эндорфина был достоверно ($p \leq 0,01$) значительно ниже контрольного. Таким образом, во 2 группе животных с моделированным ИИ сохраняется выраженный СВО весь период наблюдения за животными.

Выводы. Таким образом, моделирование ИИ у крыс сопровождается повышением уровня провоспалительных ИЛ (-1 β , -6), а также ФНО- α уже в 1 сутки экспериментального

исследования. Достигая максимума к 3 суткам, их содержание несколько снижается, но остается значительно повышенным до 14 суток.

ИЛ-1 β , -6 и ФНО- α являются общим звеном в процессах, ведущих к нейрональной гибели [4]. Повышение уровня ИЛ-1 β в 1 сутки острой церебральной ишемии в сыворотке крови коррелирует со степенью тяжести ИИ, чем он выше, тем более выражен неврологический дефект и хуже прогноз. Подтверждена роль ИЛ-1 β в патогенезе ИИ и формировании инфарктных изменений в ткани мозга. Поэтому применение иммуномодуляторов, направленных на уменьшение выраженности локальной воспалительной реакции и активацию защитных противовоспалительных систем, можно рекомендовать в качестве патогенетической терапии [3].

Список литературы

1. Гусев А.Н., Коновалов А.Б., Гехт Е.И. Неврология и нейрохирургия: клинические рекомендации. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 354 с.
2. Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Скворцова В.И., Гехт А.Б. Неврология: национальное руководство. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 1064 с.
3. Жданов Г.Н. Роль интерлейкина 1-альфа в патогенезе острого периода ишемического инсульта // Невролог. вестник им. В.М. Бехтерева. - 2005. – Т. 37, № 1-2. - С. 22-25.
4. Мюльберг А.А. Цитокины как медиаторы нейроиммунных взаимодействий / А.А. Мюльберг, Т.В. Гришина // Успехи физиолог. наук. – 2006. – Т. 37, № 1. – С. 18-27.
5. Трофименко А.И. Моделирование церебральной ишемии посредством коагуляции средней мозговой артерии у крыс / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, В.П. Лебедев [и др.] // Журн. фундаментал. исслед. - 2012. - № 2. - С. 215-218.
6. Wang-Fischer Y. Manual of stroke models in rats. - CRC Press Taylor& Francis Group. - 2009. - 352 p.

Рецензенты:

Брин В.Б., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВПО «СОГМА» Минздрава России, г. Владикавказ.

Колесникова Н.В., д.б.н., заведующая ЦНИЛ Отдела клинической экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии ГБОУ ВПО «КубГМУ» Минздрава России, профессор ГБОУ ВПО «КубГМУ» Минздрава России, г. Краснодар.