

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ГЕРАСИМЕНКО ОЛЕНА АНАТОЛІЇВНА

УДК 616.36-004:615.9-056.83

**РОЛЬ РЕДОКС-СИСТЕМИ ТА ЦИТОКІНІВ У ПАТОГЕНЕЗІ АЛКОГОЛЬНОГО
УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ
(експериментально-клінічне дослідження)**

14.03.04 – патологічна фізіологія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

Одеса – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеському державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор Сервецький Костянтин Леонідович, Одеський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор Гоженко Анатолій Іванович, Одеський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології.

доктор медичних наук, професор Клименко Микола Олексійович, Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Захист відбудеться « _____ » _____ 2008 р. о _____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.41.600.01 при Одеському державному медичному університеті МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського державного медичного університету МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 3).

Автореферат розісланий « _____ » _____ 2008 р.

**Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
к.мед.н., доцент**

В.В. Годован

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Однією з найбільш актуальних проблем сучасної науки, не тільки в медичному, але і в соціальному аспекті, є проблема алкоголізму. Таке явище обумовлено тим, що вживання алкоголю зростає в усьому світі і в тому числі в Україні (Вірстюк Н.Г. та ін., 2003). Зловживання алкоголем негативно впливає на всі органи людини, але найбільшого впливу зазнає печінка, оскільки саме тут відбувається окиснення етанолу (Шаповалов К.А., 2004). У більш віддаленому періоді у осіб, що продовжують вживати алкогольні напої, відбуваються структурні і функціональні зрушення центральної нервової системи, у серцево-судинній, ендокринній та інших “критичних системах” організму (Сюткин В.Е. та ін., 2005., Баранов В.С. та ін., 2000).

Важливим елементом цієї проблеми є і те, що останнім часом в Україні внаслідок погіршення соціально-побутових умов життя зросла кількість молодих сімей, в яких чоловік і жінка вживають в надмірних кількостях алкогольні напої (Мухин Н. та ін., 2001).

Останнє призвело до того, що у дітей, народжених від таких батьків, значно збільшилась кількість різного роду вад розвитку центральної нервової системи, серцево-судинної, ендокринної систем та розладів психічної діяльності (Аккер Л.В., 2000, Спицын В.А. и др., 2003). Безумовно, таке становище негативним чином впливає на генофонд України, сприяє росту кількості бездоглядних та безпритульних дітей, серед яких поширена схильність до вживання спиртних напоїв (Афанасьєва И.С. и др., 2003) та наркотичних речовин. Виходячи з вищенаведеного, дослідження функціонального стану таких “критичних систем”, зрушення в яких у батьків-алкоголіків віддзеркалюється на їх функціональній спроможності у нащадків, є однією з фундаментальних основ корекції можливих вад розвитку.

Серед регуляторних механізмів діяльності цих систем актуальним є дослідження окислювально-відновних процесів та функціонального стану системи цитокінів, для яких характерним є яскраво виражений поліморфізм генів (Gordon H. 2001). В доступній літературі існують лише окремі роботи (Танащук Е.Л. та ін., 2000), що торкаються дослідження цих механізмів у жінок та чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь, і практично вони відсутні у відношенні їх дітей.

Дослідження саме цих механізмів у батьків, які тривалий час вживали алкоголь до запліднення, у жінок, що вживали алкоголь під час вагітності та народжених від них дітей є важливим для вирішення вагової проблеми охорони здоров'я і збереження повноцінного генофонду України.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є окремим фрагментом науково-дослідної програми кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією Одеського державного медичного університету МОЗ України «Вплив стимуляторів інтерферогенезу, імуномодуляторів і еубіотиків на перебіг та наслідки гострих і хронічних

інфекцій та стан біоценозу кишечника» (№ держреєстрації 0103U007958). Дисертант виконувала дослідження стосовно теми дисертації.

Мета та задачі дослідження. *Мета роботи* - вивчити функціональний стан системи ПОЛ-АОС в печінці та встановити особливості продукції цитокінів мононуклеарами периферійної крові (МНПК) у алкоголізованих перед спарюванням статевозрілих щурів-самців і самок, та вивчити динаміку змін зазначених механізмів в онтогенезі їх виводку. Дослідити зміни в системі ПОЛ-АОС у печінці дорослих жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкогольні напої, та вивчити особливості продукції цитокінів мононуклеарами периферійної крові при токсичному гепатиті алкогольного генезу.

Для досягнення поставленої мети вирішувались наступні *задачі*:

1. Вивчити вміст дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), дослідити активність уроканінази в печінці і сироватці крові та активність каталази, глутатіонтрансферази (ГТ) в еритроцитах крові і печінці алкоголізованих самок і самців щурів.
2. Визначити особливості продукції цитокінів МНПК у самців і самок щурів, які тривалий час вживали алкоголь.
3. Дослідити особливості вмісту ДК, МДА, активності каталази, ГТ, уроканінази та вивчити особливості продукції цитокінів МНПК у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників.
4. Дослідити вміст ДК і МДА та активність уроканінази у сироватці крові, активність каталази і ГТ в еритроцитах крові у жінок і чоловіків, які понад 10 років зловживали алкоголем.
5. Визначити особливості продукції цитокінів МНПК жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь.

Об'єкт дослідження – патофізіологічні механізми порушень в печінці алкоголізованих перед спарюванням щурів-самців і самок, їх нащадків та у людей з токсичним гепатитом алкогольного генезу.

Предмет дослідження – функціональний стан системи ПОЛ-АОС у печінці і сироватці крові та рівень цитокінів при негативному впливі алкогольної інтоксикації.

Методи досліджень – патофізіологічні, культуральні, флюорометричні, імуноферментні, біохімічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі експериментальних досліджень встановлені основні закономірності змін вмісту ДК і МДА у печінці та сироватці крові самок і самців статевозрілих щурів, які тривалий час вживали алкоголь. Також доведено, що виявлені зміни вмісту продуктів ПОЛ у алкоголізованих самок були більш виразними, ніж у самців. Вперше доведено, що збільшення вмісту продуктів ПОЛ відбувається на тлі зниження активності каталази і ГТ в еритроцитах крові і печінці алкоголізованих самок і самців. Вперше показано, що

тривале вживання алкоголю викликало зменшення активності органоспецифічного ферменту – уроканінази - у печінці алкоголізованих самок і самців та появу його у сироватці крові, що за фізіологічних умов недопустимо і є ознакою порушень структури клітинної оболонки гепатоцитів.

Внаслідок проведених досліджень вперше доведено, що збільшення вмісту ДК і МДА на тлі низької активності каталази і ГТ та появи уроканінази у сироватці крові супроводжується глибокими зрушеннями процесів продукції цитокінів ІЛ-1 β , ФНП α , ІЛ-8, ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4, та доведена їх важлива роль у формуванні реакції – відповіді імунної системи на дію продуктів метаболізму етанолу, зокрема ацетальдегіду.

В результаті комплексних досліджень вперше виявлені особливості вмісту ДК і МДА у печінці і сироватці крові, активності каталази і ГТ в еритроцитах, зниження активності уроканінази у печінці та появи їх у сироватці самок і самців покоління, отриманого від алкоголізованих попередників, та встановлені особливості змін продукції цитокінів. Отримані дані свідчили про наявність у цьому поколінні патологічних змін в печінці, які негативно впливали на розвиток організму та сприяли виникненню генетично детермінованої схильності до алкоголю.

На підставі проведених обстежень жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь, вперше доведена подібність механізмів змін продукції ПОЛ, активності каталази, ГТ і уроканінази та продукції цитокінів з аналогічними у алкоголізованих тварин, що підтверджує провідну роль досліджених процесів у патогенезі алкогольного ураження печінки.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі проведених досліджень і отриманих результатів були розкриті раніше невідомі механізми патогенезу алкогольної хвороби в експерименті та клініці. Показано, що має місце збільшення активності уроканінази у сироватці крові алкоголізованих щурів. Цей факт може бути використано в експрес-діагностиці. Такі ж дані одержані у жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь, на відміну від здорових людей.

Доведено, що функціональний стан редокс-системи і продукції цитокінів МНПК відіграють провідну роль у патогенезі алкогольного ураження печінки, а негативні зміни їх у поколінні, отриманому від алкоголізованих попередників, можуть бути ознакою патологічних змін цього органу та можливості розвитку генетично детермінованої схильності до алкоголю і у людей. Результати цих досліджень можуть служити підґрунтям для розробки адекватних методів корекції цих змін у наступних поколіннях.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджені у навчальному процесі кафедр нейрохірургії та неврології, шпитальної терапії Одеського державного медичного університету, а також впроваджені в практичну діяльність Одеського обласного наркологічного диспансеру, університетської клініки та Одеської міської інфекційної лікарні.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто було здійснено патентно-інформаційний пошук, визначені мета і задачі досліджень, методичні підходи та опрацьовано моделі

експерименту, в процесі якого автор особисто виконала експериментальні дослідження. Здійснена математична обробка отриманих результатів та оформлення їх у вигляді таблиць, проведено їх аналіз, сформульовані висновки роботи і опубліковані основні матеріали дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були оприлюднені і позитивно оцінені на науково-практичній конференції молодих вчених (Одеса, 2006-2007), засіданнях обласного товариства інфекціоністів (Одеса 2005-2007), науково-практичній конференції і пленумі Асоціації інфекціоністів України (Донецьк, 2007).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 7 наукових робіт, з яких 4 статті у фахових виданнях ВАК України, 3 - у збірках матеріалів конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 159 сторінках машинопису і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень трьох розділів власних досліджень, висновків та списку використаної літератури. Робота ілюстрована 40 таблицями. Бібліографія містить 188 джерел кирилицею та 84 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Експериментальні дослідження проведені на щурах лінії Вістар обох статей. Усі тварини утримувались за стандартних умов віварію Одеського державного медичного університету. Дослідження планували з врахуванням основних положень моделювання експериментів по вивченню спадкових ефектів у ссавців (Буко В.У., та ін., 1994). У відповідності до поставленої мети та задач дослідження експеримент було розділено на дві частини. У першій частині досліджували вплив алкоголю на статевозрілих самців і самок перед спарюванням. Для цього було використано 63 самці та 187 самок віком три місяці і масою тіла 180 – 200г. Самок підбирали до експерименту таким чином, щоб вони знаходились на одній стадії естрального циклу, останню визначили за допомогою мазків із піхви (Кампов-Полевой А.Б., 1982).

Алкоголізація тварин проводилась за методом вільного вибору з використанням 5% водного розчину алкоголю і води (Бардина Л.Р., Сатановская В.И., 1999), який, на думку більшості авторів, є одним з найбільш адекватних по відтворенню алкогольної хвороби.

Друга частина експерименту була проведена на поколінні щурів самців і самок, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням статевозрілих тварин. З отриманих нащадків за віковим цензом сформовано наступні групи: 1) 1-місячні щуренята; 2) 2-місячні щури; 3) 6-місячні щури; 4) 12-місячні щури, 5) 24-місячні щури. Кожній експериментальній групі тварин відповідали інтактні тварини одного віку. Щурів забивали під ефірним наркозом шляхом декапітації.

Під час виконання дисертаційної роботи було обстежено 60 осіб з алкогольною хворобою печінки та 40 донорів у віці від 30 до 60 років. Основними клінічними ознаками були наявність жовтяниці, гепатомегалія, у деяких випадках вона виявлялась надмірною, з наявністю щільного

нижнього краю органа. У таких хворих виявлялась також спленоомегалія, симптоми портальної гіпертензії.

Враховуючи той факт, що в нашому експерименті були використані тканини печінки не статевозрілих щурів, нами застосовувалась мікрomodифікація відомих методик (Пішак В.П. та ін., 2002), що дало можливість у кожної піддослідної тварини комплексно визначити вміст ДК і МДА та активність каталази. Активність ГТ в тканинах печінки визначали по утворенню кон'югатів відновленого глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом (Ланкін В.З. та ін., 1981). Активність уроканінази для гомогенатів печінки виражали в нмоль уроканінової кислоти, що розклалася за 1 хв. у розрахунку на 1 г тканини, у сироватці крові - з розрахунку на 1 мл сироватки. Концентрацію уроканінової кислоти в пробі визначають по калібрувальному графіку.

Для визначення вмісту цитокінів (IL-1 β , ФНП- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8) в сироватці та цільній крові після декапітації тварин кров забирали двома порціями. Першу порцію крові забирали до стерильної пробірки та інкубували 1 год. при кімнатній температурі і 1 год. при 4°C. Потім, після центрифугування при 3000 об/хв. на протязі 10 хв., збирали сироватку, яку заморожували і зберігали до тестування. Другу порцію крові забирали до стерильної пробірки, яка містила гепарин (20 од/мл), і ретельно перемішували. Потім 1 мл цільної гепаринизованої крові змішували з 4 мл середовища RPMI-1640 (Sigma, USA), доповненої 0,3 мг/мл L-глутаміну, 5 мМ НЕРЕ-буфера і 100 мкг/мл гентаміцину. Підготовлені таким чином взірці крові (по 1 мл) культивували в круглодонних стерильних пробірках в присутності індуктора [ліпополісахарид *Escherichia coli* 0111:B4 (Sigma) в концентрації 10 мкг/мл], а також без індуктора.

Культивування проводили при 37°C в CO₂-інкубаторі протягом 24 год., після чого обережно відбирали супернатант (аліквотами по 0,2 мл) і зберігали отримані зразки при -20°C до тестування.

Вміст цитокінів оцінювали методом проточної флюориметрії на двопробеному лазерному аналізаторі (Bio-Plex Protein Assay System, Bio-Rad, USA) з використанням комерційної тест-системи «17-plex» фірми Bio-Rad у відповідності до інструкції фірми-виробника.

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували критерій Ст'юдента та статистичну програму Statistica і Microsoft Excel – 97.

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті проведених досліджень встановлено, що тривале вживання алкоголю статевозрілими самками і самцями викликало досить істотні зміни інтенсивності процесів ПОЛ та функціонального стану ферментів АОС як у печінці (рис 1.), так і у сироватці крові порівняно з одновіковими тваринами контролю.

У сироватці крові алкоголізованих самців вміст ДК збільшувався на 30,6% а МДА на 45,6%. Активність каталази в еритроцитах знижувалась на 31,7% а ГТ на 32,3%.

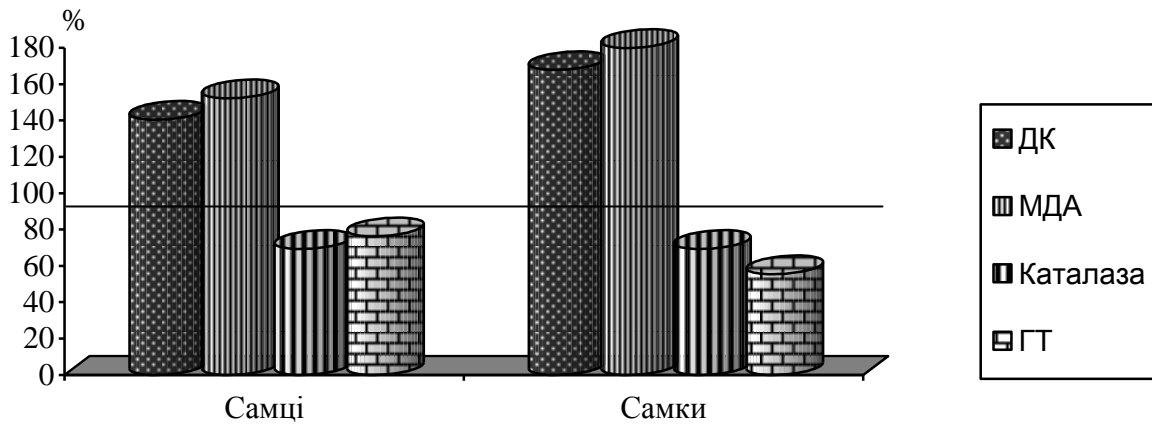


Рис 1. Вміст ДК і МДА та активність каталази і ГТ у печінці алкоголізованих самців і самок.

Аналогічна картина спостерігалася і у алкоголізованих самок. Так, вміст ДК та МДА у сироватці крові збільшувався відповідно на 50,7% і 61,1%, на фоні зниження активності ГТ на 43,7% та каталази на 46,7%.

Отримані нами результати свідчили про зсув рівноваги у системі ПОЛ-АОС і розвитку пероксидації у печінці, що в свою чергу, як відомо, може призвести до деструктивних змін у гепатоцитах. Підтвердженням висловлених припущень були результати досліджень активності уроканінази - ферменту, який за фізіологічних умов є характерним тільки для гепатоцитів і в крові та інших органах і тканинах не виявляється. В результаті таких досліджень встановлено, що активність уроканінази у тканинах печінки самок і самців, які вживали алкоголь, достовірно знижувалась порівняно з контролем відповідно на 14,5% та 29,3%. Одночасно активність ферменту виявлялась у сироватці крові, що за фізіологічних умов недопустимо, і становила у самок $5,8 \pm 0,6$ мкмоль/мл та у самців $2,6 \pm 0,7$ мкмоль/мл.

Як видно із отриманих даних, глибина виявлених зрушень досліджених процесів у сироватці та еритроцитах і тканинах печінки була значно більшою у алкоголізованих самок, ніж у самців. Останнє є підтвердженням існуючих даних відносно того, що у жінок алкогольне пошкодження печінки розвивається за більш короткий термін і протікає більш важко. Є припущення, що це пов'язано з більш низькою концентрацією шлункової фракції ферменту алкогольдегідрогенази, і через це до печінки жінок надходить більша кількість алкоголю.

Відомо (Виноградов С.В., 2004), що однією із реакцій печінки на алкогольну ендотоксемію є гіперфункція імунної системи. У зв'язку з цим нами проведені дослідження рівня продукції цитокінів мононуклеарами периферійної крові. В результаті цих досліджень було встановлено, що показники продукції прозапальних цитокінів: ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ФНП- α зазнають значних змін (рис 2) порівняно з показниками інтактних тварин.

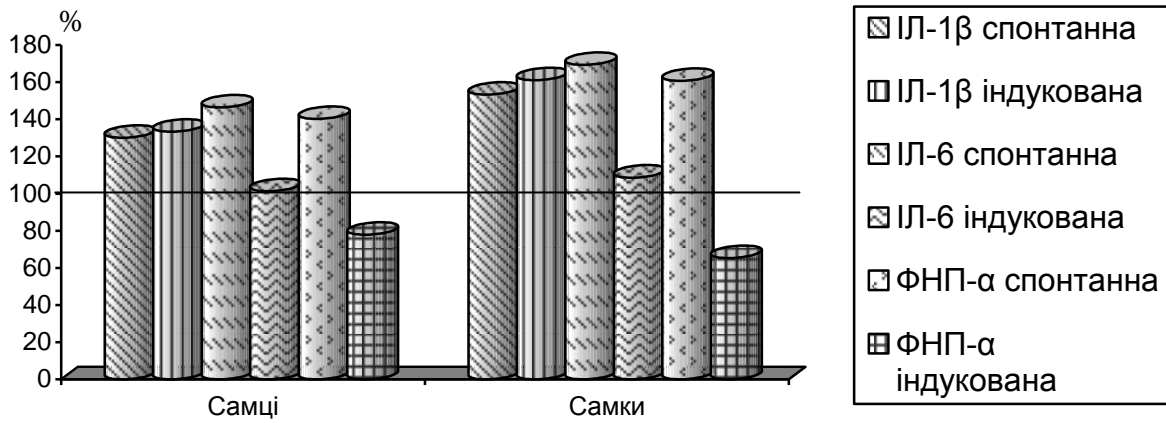


Рис 2. Рівень спонтанної та індукованої продукції прозапальних цитокінів мононуклеарами периферійної крові

Наведені факти свідчать про те, що зростання спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β є ознакою посилення синтезу релізінг-факторів та стимуляції продукції стероїдів, які є одними із найбільш потужних імуносупресорів. З іншого боку, як відомо, гіперпродукція ІЛ-1 β впливає на патогенез пошкодження печінки. Збільшення продукції і вмісту ФНП- α , який, як відомо, індукує нейтрофіли до вивільнення ряду біологічно активних сполук, призводить до того, що у зоні запалення вивільняється і концентрується велика кількість перекису водню та активних радикалів кисню. Це явище і є однією з причин інгібування каталази і пригнічення гепатоцелюлярної активності нейтралізації перекису водню. А підвищена кількість ІЛ-6 посилює деструктивні зміни у печінці (Saigal S., Karoor D., 2002, Маевская М.В., 2004), оскільки цей цитокін стимулює синтез білків гострої фази: фібріногену, пантоглобіну, α_2 -мікроглобуліну та інших.

Стосовно рівня вказаних цитокінів у сироватці крові, то слід зазначити, що ІЛ-1 β не був виявлений ні у алкоголізованих самців ні у самок. Показники ІЛ-6 у алкоголізованих самців склали $3,5 \pm 0,4$ нг/мл і алкоголізованих самок $7,0 \pm 0,6$ нг/мл, що було вище за данні інтактних тварин відповідно на 69,3% та 80,3%. Вміст циркулюючого ФНП- α у сироватці крові алкоголізованих самок збільшувався стосовно інтактних тварин на 90,2% а у алкоголізованих самців-щурів на 60,5%.

Досить цікавими були результати дослідження продукції ІЛ-8, відомого як класичний хемоаттрактат, що бере участь у втягуванні клітин імунної системи до місця надходження антигену. Внаслідок таких досліджень встановлено, що в алкоголізованих самок спонтанна продукція ІЛ-8 переважала рівень у інтактних самок у 7,3 рази, а індукована продукція знижувалась, але виявлені відмінності не мали достовірного характеру. У алкоголізованих самців спонтанна продукція ІЛ-8 також посилювалась і при цьому переважала показники контролю у 4,4 рази, а індукована продукція ІЛ-8, навпаки, знижувалась і стосовно до інтактних тварин

дорівнювала 88,6%. Таким чином, дослідження особливостей продукції ІЛ-8 в алкоголізованих самок і самців виявило значні зміни при дослідженні *in vivo* та *in vitro*, що, очевидно, є однією з ознак участі цього цитокіну у формуванні алкогольної хвороби печінки.

Не менш цікавими були результати досліджень індукованої продукції ІЛ-2 та ІЛ-4, які, як відомо відносяться до регуляторів активації, проліферації та диференціювання лімфоцитів, і продукують їх самі лейкоцити. Внаслідок таких досліджень було встановлено, що індукована продукція ІЛ-2 в алкоголізованих тварин знижувалась і стосовно контролю дорівнювала у самок 65,6%, а у самців - 75,8%. На нашу думку такі результати пояснюються не наявністю у алкоголізованих тварин Т-клітинного дефіциту, а переключенням Тх1 – на Тх2 - відповідь. У зв'язку з цим було проведено дослідження продукції ІЛ-4. В результаті проведених досліджень встановлено, що у алкоголізованих самок спонтанна продукція ІЛ-4 була вища, ніж в інтактних тварин на 98,6%, а індукована – на 106,3%. У самців, які тривалий час вживали алкоголь, спонтанна продукція ІЛ-4 переважала рівень контролю на 83,2%, а індукованої – на 91,6%. Рівень циркулюючого ІЛ-4 у сироватці крові алкоголізованих самок стосовно контролю дорівнював 195,7%, а у самців – 182,3%.

Отже, наведені вище факти підтверджують безсумнівну роль цитокінів у патогенезі алкогольного ураження печінки, оскільки вони посідають одне із центральних місць у міжклітинних взаємодіях, регуляції імунних зрушень і проліферативних реакцій при цій патології. Важливим з нашої точки зору є і той факт, що виразність виявлених змін була значно більшою у самок, ніж у самців, і це дає змогу погодитись з думкою деяких авторів про провідну роль у розвитку цієї патології активності алкогольдегідрогенази.

На підставі експериментальних даних, отриманих нами, та існуючих відомостей в літературі (Budac M., Milicevic Z., Koko V. 2000), ми дійшли до припущення про можливість модифікації функціонального стану цитокінової ланки імунітету у осіб, що вживали алкоголь протягом 10 років. Проведені дослідження у жінок і чоловіків, які щоденно тривалий час вживали алкоголь, підтвердили висловлене вище припущення. Так, встановлено, що спонтанна та індукована продукції ІЛ-1 β у алкоголізованих жінок та чоловіків достовірно зростали порівняно з одновіковими донорами відповідно у жінок на 65,6% і 76,7% та у чоловіків на 44,3% і 51,1% . Циркулюючий у сироватці крові ІЛ-1 β не виявлявся. Отже, наведені факти свідчать про наявність запальних процесів в організмі обстежених осіб. В той же час відсутність ІЛ-1 β у сироватці крові очевидно обумовлена двома факторами: наявністю розчинних форм рецептора ІЛ-1 β або наявністю антитіл до ІЛ-1 β та підвищеною продукцією рецепторного антагоніста РАІЛ, який конкурує з ІЛ-1 β за зв'язування з рецептором ІЛ-1 І-шого типу та інгібує аутокринну регуляцію МНПК, що продукують ІЛ-1 β . Оскільки в літературі (Tilg H., Jalan R., 2003) відводиться важлива

роль ФНП- α у розвитку оксидативного стресу та апоптозу, то нами були проведені дослідження цього цитокіну у хронічних алкоголіків обох статей. Внаслідок таких досліджень встановлено, що спонтанна продукція ФНП- α достовірно зростала, а індукована - знижувалась відносно донорів. Виявлене зниження продукування ФНП- α мононуклеарами периферійної крові (МНПК) у відповідь на антигенний стимул, що вагомо доводиться при з'ясуванні індексу стимуляції, який у жінок-алкоголіків дорівнював 1,9, а у чоловіків - 3,1, що було достовірно нижчим ніж у донорів. Очевидно, що порушення продукції ФНП- α у відповідь на антигенний стимул можуть бути зв'язані з тривалою гіперпродукцією ФНП- α МНПК та зростанням його вмісту у периферійній крові, що приводить до порушення аутокринної регуляції цитокіну, і рефрактерністю клітин-продуцентів до антигенного стимулу, що підтверджується рядом досліджень. Звертає на себе увагу те, що і в цьому випадку більш глибокі зрушення виникають у алкоголізованих жінок. Досить цікавими були результати дослідження продукції ІЛ-8, за якими встановлено, що спонтанна продукція у алкоголізованих жінок та чоловіків достовірно зростала стосовно контролю, а індукована – знижувалась. Паралельно з цим відбувалось зростання ІЛ-8 у сироватці крові жінок і чоловіків. Враховуючи літературні дані (Фрейдлин І.С., 1995, Топорков А.С., 2003) та результати наших досліджень, є підстави вважати, що відсутність відповіді МНПК на антигенний стимул обумовлена наявністю зворотного зв'язку, який виявляється у цих пацієнтів. У цьому випадку значна кількість циркулюючого у сироватці крові ІЛ-8 зв'язується зі своїм рецептором, внаслідок чого блокується проведення сигналу.

При дослідженні ІЛ-6 встановлено, що спонтанна продукція цього цитокіну у жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь, достовірно зростала стосовно показників донорів ($P < 0,05$). Паралельно з цим виявлено, що індукована продукція ІЛ-6 у жінок і чоловіків з токсичним гепатитом алкогольного генезу практично не відрізнялась від контролю. В той же час відповідь клітин на індуктор була різко зниженою, що підтверджується також зменшенням у жінок і чоловіків, які вживали алкоголь, індексу стимуляції ($P < 0,05$). Крім того, у сироватці периферійної крові спостерігалось збільшення кількості ІЛ-6, що було свідченням безпосереднього впливу цитокіну на клітини-мішені і не суперечило існуючим уявленням (Rossol S., 2001). З іншого боку зрозуміло, що такі зміни продукції ІЛ-6, який відіграє провідну роль у хронічних захворюваннях печінки різного генезу, а також впливає на активність фіброгенезу у ній, негативним чином відображуються на її функціональному стані у осіб з алкогольною хворобою цього органу. Для з'ясування питання про можливі зміни в Т-клітинному імунітеті у осіб з алкогольною хворобою печінки проведені дослідження продукції ІЛ-2. Внаслідок таких досліджень виявлено, що індукована продукція ІЛ-2 у жінок і чоловіків, які вживали тривалий час алкоголь, була достовірно нижчою за рівень контролю ($P < 0,05$). Перерахунок індукованої продукції на клітину-продуцент дозволив виявити достовірне її зниження у жінок і чоловіків. Ці

факти, очевидно, є свідченням зниження функціональної здатності Т-лімфоцитів алкоголізованих чоловіків і жінок продукувати Т-клітинний ростовий фактор. Аналіз цих результатів та співставлення їх з літературними даними (Лейшнер У., 2005, Талаев В.Ю., Ломунова М.А. та ін., 2006) дозволяє нам стверджувати, що причиною цих змін є не Т-клітинний дефіцит, а переключення з Тх1 – на Тх2-відповідь у цих пацієнтів.

Отримані результати наших досліджень та співставлення їх з існуючими відомостями сучасної літератури (Буров Ю.В., 1985) дали нам підставу вважати за доцільне провести дослідження продукції ІЛ-4. Такі дослідження дали змогу встановити, що спонтанна та індукована продукції ІЛ-4 МНПК достовірно посилювались у алкоголізованих жінок і чоловіків порівняно з показниками донорів ($P < 0,05$). Паралельно з означеним у сироватці периферійної крові відбувалось збільшення кількості циркулюючого ІЛ-4, яка у алкоголізованих жінок та чоловіків достовірно переважала рівень донорів ($P < 0,05$). При цьому глибина виявлених змін продукції ІЛ-4 була значно вищою у алкоголізованих жінок, ніж у чоловіків. Крім того, розрахунки кількості циркулюючого ІЛ-4 на клітину-мішень дозволили виявити, що у жінок і чоловіків, які понад 10 років вживали алкоголь, вона достовірно переважала показники донорів ($P < 0,05$). Отже, такі зміни продукції ІЛ-4 є ознакою підвищення активності 1,2-ліпооксигенази, внаслідок чого посилюються процеси міграції і проліферації та індукції молекули адгезії VCAM. Очевидно, що більш висока продукція ІЛ-4 у алкоголізованих жінок з алкогольною хворобою печінки є відображенням швидкості формування у ній деструктивних процесів.

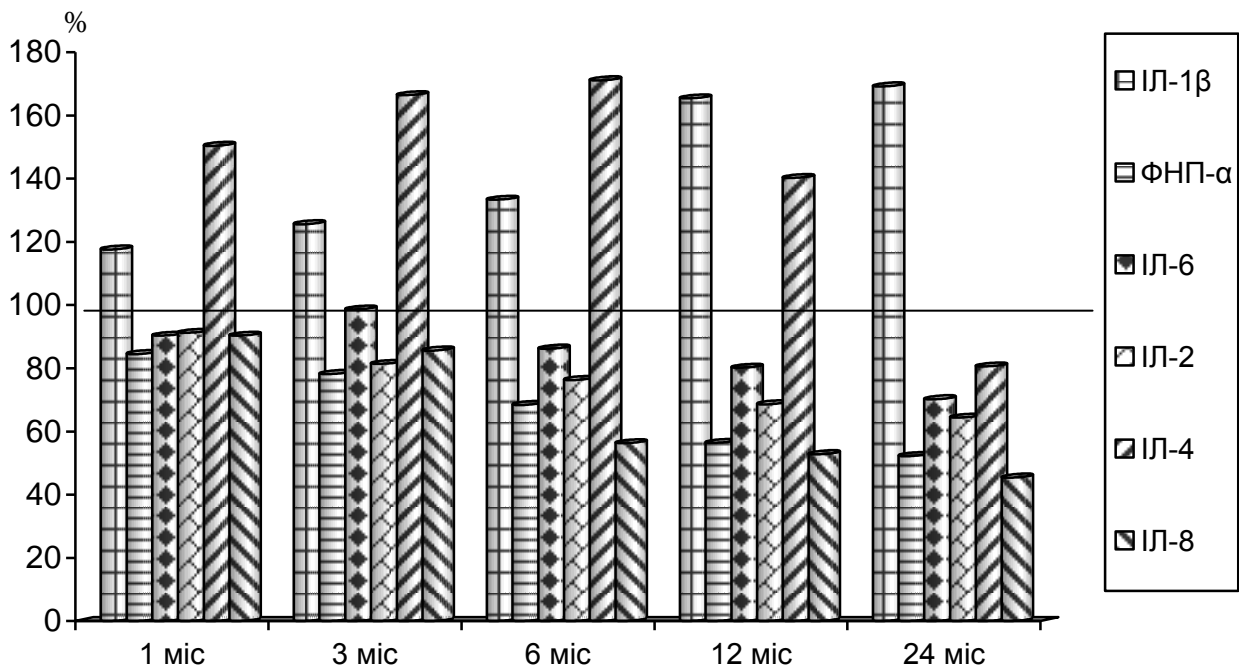


Рис 3. Індукована продукція цитокінів МНПК самців отриманих від алкоголізованих попередників

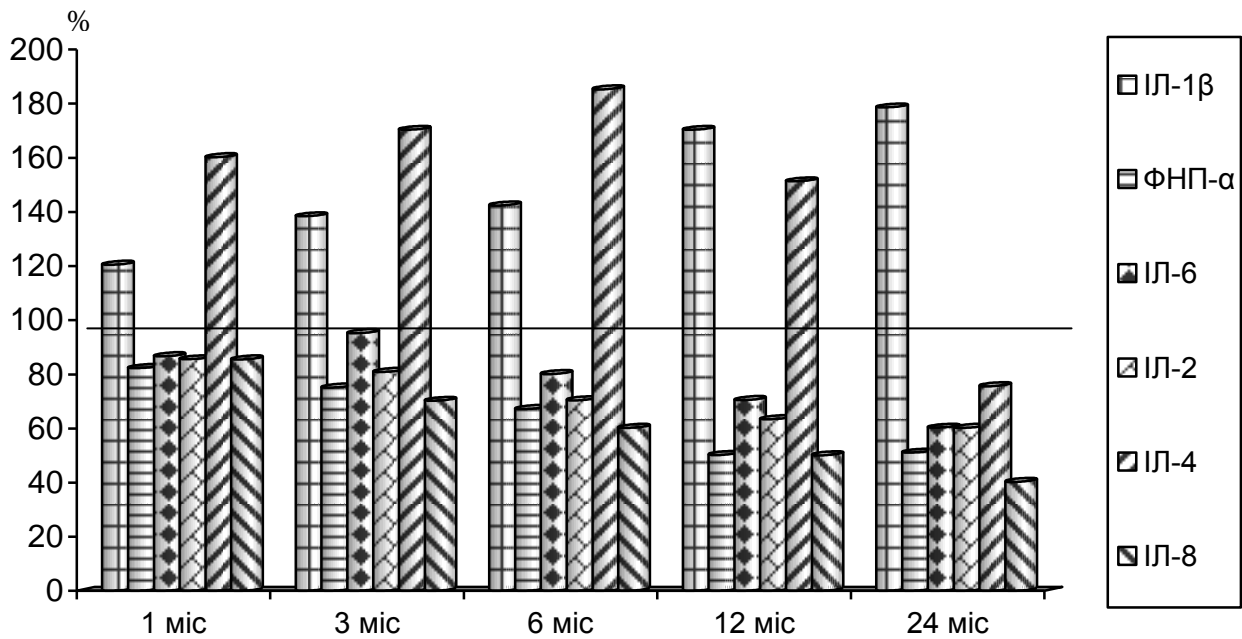


Рис 4. Індукована продукція цитокінів МНПК самок отриманих від алкоголізованих попередників

У цілому ряді робіт (Пронько П.С. та ін., 1999, Селевич М.И., Лелевич В.В., 1999, Хіе J., Kolls J., 1995) встановлено, що тривале вживання алкоголю тваринами перед спарюванням та під час вагітності негативним чином відбивається на здоров'ї їх нащадків, сприяючи розвитку різних вад розвитку. Враховуючи ці факти, нами були проведені дослідження процесів ПОЛ-АОС, активності антиоксидантних ферментів і уроканінази та цитокінової ланки імунітету у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників. В результаті таких досліджень встановлено, що в 1-місячних самок і самців, попередники яких тривалий час вживали алкоголь, спостерігались досить істотні відмінності досліджених процесів від одновікового контролю. Так, наприклад, у самок вміст ДК і МД у печінці і сироватці крові достовірно переважав рівень контролю ($P < 0,05$). Активність каталази і глутатіонтрансферази в еритроцитах і печінці цих самок не відрізнялась від контролю. У 1-місячних самців цього покоління у печінці і сироватці крові вміст ДК і МДА практично був на рівні показників одновікового контролю. Паралельно з цим спостерігалось зниження активності антиоксидантних ферментів. Що стосується активності уроканінази, то вона у печінці самок і самців була достовірно нижча від показників одновікового контролю ($P < 0,05$) і водночас виявлялась у сироватці периферійної крові. Такі зміни у функціональному стані ПОЛ-АОС є ознакою зсуву рівноваги у бік накопичення кисеньактивних сполук, що негативно відображується на структурі біологічних мембран. Слід підкреслити, що виявлені зміни були більш глибокими у самок. Безумовно, що виявлені зрушення вмісту продуктів ПОЛ та їх утилізації негативно впливають на продукцію цитокінів МНПК. Підтвердженням цього були результати дослідження спонтанної та індукованої (Рис. 3, Рис. 4) продукції цитокінів у самок і самців 1-

місячного віку, отриманих від алкоголізованих попередників. Так, спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β у самому і самців достовірно переважали контроль, при цьому у сироватці крові цей цитокін не виявлявся. Паралельно з означеним спостерігалось достовірне посилення спонтанної продукції ФНП- α у 1-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, і в той же час індукована продукція ФНП- α знижувалась.

Кількість циркулюючого у сироватці крові ФНП- α також достовірно зростала порівняно з одновіковим контролем. Спираючись на результати наших досліджень, ми вважаємо, що такі зміни протизапальних цитокінів ІЛ-1 β і ФНП- α негативно впливають на функціональну активність печінки цих тварин, оскільки відомо, що їх гіперпродукція індукує системні пошкоджуючі реакції. Внаслідок того, що ФНП- α індукує нейтрофіли до вивільнення біологічно активних сполук (Вернигора А.Н., Генгин М.Т., 1994), вивільняється велика кількість активних радикалів кисню, інгібується активність каталази. Можливо, що такі зміни продукції цитокінів у нащадків, отриманих від алкоголізованих самок і самців, обумовлені мутантною дією етанолу і на гени ФНП- α і ІЛ-1. Дослідження спонтанної продукції ІЛ-8 МНПК показали, що вона у самок і самців 1-місячного віку, попередники яких були алкоголізовані, достовірно переважала рівень контролю ($P < 0,05$), в той час як індукована знижувалась у самок і самців і була на рівні останнього. У сироватці крові ІЛ-8 не виявлявся. Підтвердженням зниження відповіді на індуктор клітин-продуцентів було зниження індексу стимуляції порівняно з контролем. Очевидно, що такі зміни продукції ІЛ-8 у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, також обумовлені мутагенною дією етанолу на ген ІЛ-8, оскільки відомо (Переяслав А.А. та ін., 1999), що для нього існує декілька одонуклеотидних заміщень та характерною є асоціація поліморфізму (- 251/Т) промоторної ділянки з А. В результаті досліджень продукції ІЛ-6 у самок і самців алкоголізованих попередників встановлено, що спонтанна продукція достовірно зростала відносно контролю, а індукована - практично не відрізнялась від останнього. Рівень циркулюючого у сироватці крові ІЛ-6 у самок переважав одновіковий контроль, а у самців не відрізнявся від останнього. І в цьому випадку, очевидно, що хронічне вживання алкоголю попередниками сприяє змінам на генетичному рівні, оскільки відомо, що в регуляторній ділянці гена ІЛ-6 (промоторна ділянка) знайдено поліморфний сайт (-174 G/C), в якому два алеля -G і C- визначають різкий контитуївний і індукційний таючий ефект "доза гена" в ряду генотипів CC/GC/GG, що виражається в підвищенні рівня його транскрипції (Кушнір Е.А. та ін., 2004).

З'ясування індукованої продукції ІЛ-2 МНПК показало, що вона у 1-місячних самок достовірно зростала відносно контролю ($P < 0,05$), а у самців практично не відрізнялась від останнього. Спонтанна та індукована продукції ІЛ-4 у самок і самців цього покоління були достовірно вищими за аналогічні значення одновікового контролю ($P < 0,05$). Паралельно з цим

відбувалось зростання кількості ІЛ-4 у сироватці крові, показники якої достовірно переважали контроль ($P < 0,05$). В той же час кількість циркулюючого у сироватці крові ІЛ-4 у перерахунку на клітину-продуцент у 1-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, практично не відрізнялась від одновікового контролю.

Починаючи з 3-місячного віку у самок і самців, отриманих від попередників, які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, спостерігалось неухильне зростання вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду у печінці і сироватці крові і максимальний рівень його спостерігався у 24-місячних тварин. Паралельно з цим у печінці та еритроцитах крові відбувалось зниження активності каталази і глутатіонтрансферази, мінімальні значення яких відзначались у 24-місячних тварин. Що стосується активності уроканіази, то у печінці вона знижувалась, а у сироватці крові зростала. Таким чином, зі збільшенням віку у самок і самців, попередники яких були алкоголізовані, спостерігалось посилення дестабілізації взаємодії ПОЛ-АОС і, як наслідок цього, зростання кількості кисеньреактивних сполук на тлі різкого пригнічення антиоксидантної системи. Очевидно, що такі зміни у системі ПОЛ-АОС призводять, з одного боку, до деструктивних змін в біомембранах, підтвердженням чого є поява активності уроканіази (Гороховская Г.Н. та ін., 1997) і, з іншого боку - до передчасного старіння цих тварин, оскільки відомо (Гамалея Н.Б. та ін., 1998), що надлишкові кількості перекисних сполук є предикторами старіння. Отримані результати досліджень також свідчать про те, що надмірні кількості кисеньреактивних сполук модифікують експресію генів цитокінів, через що спостерігаються відповідні зміни продукції останніх. Досить істотну роль у цих процесах відіграє глутатіонтрансфераза, яка, як відомо (Афанасьєва И.С., Спицын В.А., 1990), виконує одну із ключових функцій у забезпеченні резистентності клітин до продуктів ПОЛ і вільних радикалів. В запобіганні пошкодженням ДНК мікросомальна глутатіон-S-трансфераза тісно пов'язана з системою цитохрому P450 (Бабак О.Я., 2001, Шерлок Ш., Дули Дж., 1999), що є необхідною умовою для швидкої інактивації цито- і гепатотоксичних метаболітів. Відомо, що в осіб з функціонально малоактивними формами ізоформи цього ферменту, які кодуються мутантними алелями гена, частіше розвивається ураження печінки на тлі зловживання алкоголем. Встановлено (Селевич М.И., Лелевич В.В., 1999), що експресія генів глутатіон-S-трансфераз відбувається в різних органах, але особливо вона висока у печінці. Виходячи з цього, можна вважати, що у першому поколінні тварин, отриманих від алкоголізованих самців і самок, зниження активності глутатіонтрансферази є кодуванням мутантними алелями гена і появою функціонально малоактивних форм цього ферменту. Такі зміни активності ферменту безумовно сприяють посиленню ендоксемії у самок і самців, яка з віком збільшується і негативно впливає на синтез і секрецію первинних медіаторів запалення – цитокінів, серед яких основними є ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4, що мають протизапальну дію. Підтвердження вищесказаного були отримані нами результати

досліджень, які показали, що починаючи з 3-місячного віку у самок і самців покоління, отриманого від алкоголізованих тварин обох статей, відбувалось посилення продукції ІЛ-1 β і ФНП- α з максимумом проявів у 24-місячних, тоді як максимальні показники продукції цитокінів ІЛ-8, ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4 виявлялись у 12-місячних щурів з наступним зниженням у дворічних.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, яка полягає у визначенні ролі редокс-системи і цитокінової ланки імунної системи в патогенезі алкогольного ураження печінки в експерименті і клініці та у з'ясуванні функціонального стану цих процесів у поколінні, отриманому від алкоголізованих попередників. Вирішення її надає фундаментальну основу для розробки фармакологічної корекції виявлених зрушень та попередження вад розвитку.

1. Тривале вживання алкоголю самками і самцями статевозрілих щурів викликало достовірне збільшення вмісту ДК і МДА в печінці і сироватці крові цих тварин порівняно з контролем ($P < 0,05$). Характерною особливістю було і те, що виразність виявлених змін вмісту продуктів ПОЛ у печінці і сироватці крові у самок була більшою, ніж у самців.
2. У самок і самців статевозрілих щурів, які тривалий час шляхом вільного вибору вживали алкоголь, активність каталази і ГТ в еритроцитах крові і печінці достовірно знижувалась відносно одновікового контролю. Паралельно з цим у печінці алкоголізованих самок і самців відбувалось зниження активності уроканіази. Дослідження сироватки крові показали наявність активності уроканіази у високих значеннях, що, очевидно, є ознакою деструктивних процесів у печінці. І в цьому випадку більш глибокі зрушення виявлялись у самок.
3. У жінок і чоловіків, які понад 10 років щоденно вживали алкоголь, у сироватці крові вміст ДК був вищим за рівень аналогічних показників донорів відповідно на 60,7 і 40,1%, а МДА на 75,6 і 61,7%. В абсолютних значеннях вміст ДК і МДА у сироватці крові жінок достовірно переважав рівень показників у чоловіків ($P < 0,05$).
4. Обстеження жінок і чоловіків, які щоденно на протязі понад 10 років вживали алкогольні напої, показали, що активність каталази і ГТ в еритроцитах крові була нижчою за показники донорів відповідно на 39,7 і 48,8% та 24,1 і 22,6%. В абсолютних значеннях активність каталази у жінок і чоловіків майже не відрізнялась, а ГТ у жінок була нижчою. Крім цього, у сироватці крові цих жінок і чоловіків виявлялась активність уроканіази, яка у жінок була вищою, ніж у чоловіків, більш ніж у 2 рази. Останнє є ознакою того, що у алкоголізованих жінок деструктивні процеси у печінці мали більш виразний характер.

5. Продукція цитокінів ІЛ- β , ФНП- α , ІЛ-8, ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4 МНПК у самок і самців, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням попередників, зазнавала досить істотних змін, ступінь яких зростав від 1-місячних до 24-місячних тварин. Характерним для цих змін було те, що, незважаючи на посилення спонтанної та індукованої продукції цих цитокінів, відповідь на антиген у більшості їх знижена. Подібні зміни продукції цитокінів МНПК спостерігались і у жінок та чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь. При цьому виразність виявлених змін продукції цитокінів більшою була у жінок.
6. У поколінні самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, починаючи з 1- і по 24-й місяць, спостерігалось достовірне збільшення вмісту ДК і МДА у печінці та сироватці крові, поряд з цим відбувалось зниження активності каталази і ГТ в еритроцитах крові та зменшувалась активність в печінці уроканінази, тоді як у сироватці вона неухильно зростала. Максимальні зміни досліджених процесів були виявлені у 24-місячних самок і самців.
7. Продукція цитокінів ІЛ- β , ФНП- α , ІЛ-8, ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4 МНПК у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, в усіх вікових групах мала достовірні відмінності від одновікового контролю. При цьому максимально високі показники спонтанної і індукованої продукції виявлялись у 12-місячних тварин. Крім того, незважаючи на високий рівень спонтанної та індукованої продукції цитокінів, відповідь на антигенний стимул була зниженою.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Герасименко О.А., Сервецький К.Л. Вміст продуктів переокисного окиснення ліпідів у печінці та сироватці крові щурів, отриманих від алкоголізованих самців і самок // Одеський медичний журнал. – 2006. - № 4. - С. 6-8 (дисертантом виконані експериментальні дослідження, обробка та аналіз даних, узагальнення).
2. Герасименко О.А., Сервецький К.Л. Активність уроканінази у печінці та сироватці крові в онтогенезі самців і самок, отриманих від алкоголізованих попередників // Світ біології та медицини. - 2006. - №3.- С. 16-19 (дисертантом виконані літературний пошук, проведення експерименту, обробка отриманих даних, аналіз та узагальнення, написання висновків).
3. Герасименко О.А., Сервецький К.Л., Напханюк В.К. Активність антиоксидантних ферментів в еритроцитах та печінці самців і самок, отриманих від алкоголізованих попередників // Буковинський медичний вісник.-2006. Т. 10. - № 4. - С. 214-217 (дисертантом виконані експериментальні дослідження, аналіз та узагальнення).
4. Герасименко О.А. Активність антиоксидантних ферментів у еритроцитах і сироватці крові в осіб з алкогольною хворобою печінки // Досягнення біології та медицини. – 2007. - №1. – С. 62-

67 (дисертантом проведена математична обробка результатів дослідження, зроблені висновки, підготовка наукових даних до публікації).

5. Герасименко О.А. Особливості активності каталази в еритроцитах крові та печінці алкоголізованих щурів // Тези доповідей науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю „Вчені майбутнього”.- Одеса. - 2006. - С. 29-39.
6. Герасименко О.А., Чабан Т.В. Порушення в системі цитокінів у хворих на хронічний гепатит С // Тези доповідей науково-практичної конференції і пленуму Асоціації інфекціоністів України «Хвороби печінки в практиці інфекціоніста». – Тернопіль. – 2007. – С. 147-149.
7. Герасименко О.А. Особливості активності уроканіази в еритроцитах крові та печінці алкоголізованих щурів // Тези доповідей науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю „Молодь – медицині майбутнього”. - Одеса. - 2007. - С. 127.
8. Патент на корисну модель № 25183, Україна, МПК (2007) А61В5/145, А6F9/007 Спосіб диференційної діагностики функціонального стану печінки у нащадків, отриманих від алкоголізованих попередників, в експерименті / К.Л. Сервецький, О.А. Герасименко – у 2007 03772; Заявл.05.04.2007.; Опубл. 25.07.2007, Бюл. № 11.- 4 с. (дисертантом виконані інформаційно-патентний пошук, обробка отриманих даних, участь в розробці способу диференційної діагностики функціонального стану печінки, оформлення патенту).

АНОТАЦІЯ

Герасименко О. А. Роль редокс-системи та цитокінів у патогенезі алкогольного ураження печінки - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. Одеський державний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2008.

Дисертація присвячена вивченню функціонального стану редокс-системи та встановленню особливостей продукції цитокінів у печінці алкоголізованих перед спарюванням статевозрілих самців та самок, визначенню особливостей перебігу цих процесів в онтогенезі їх виводку, та встановити їх змін у дорослих жінок і чоловіків які тривалий час вживали алкогольні напої.

Внаслідок проведених досліджень встановлено, що в алкоголізованих тварин у тканинах печінки та сироватці крові спостерігалось збільшення вмісту ДК і МДА і, навпаки, активність каталази і ГТ знижувалась. Паралельно з цим спостерігалось зниження активності уроканіази у тканинах печінки і поява її у сироватці крові, що за фізіологічних умов є недопустимим фактом. Досить істотних змін в алкоголізованих самців і самок зазнавала продукція цитокінів ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-8, ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4. Виразність виявлених змін, їх напрямок залежав від виду цитокіна. Встановлено також, що більш істотних змін досліджені процеси зазнавали у самок.

Аналогічні за характером зміни досліджених процесів були виявлені і в крові жінок та чоловіків, які понад 10 років вживали алкогольні напої.

За результати дослідження процесів перекисного окиснення ліпідів, активності антиоксидантних ферментів, уроканінази та продукції цитокінів у самок і самців різного віку, отриманих від алкоголізованих попередників, встановлено, що у них з віком спостерігалось збільшення вмісту ДК, МДА у печінці і сироватці крові та мінімальні відхилення виявлені у 24-місячних тварин. Паралельно у печінці та еритроцитах крові спостерігалось зниження активності каталази та ГТ, що свідчило про порушення мембран гепатоцитів. Підтвердженням цього були результати дослідження активності уроканінази, які показали, що вона знижувалась у тканинах печінки і виявлялась у сироватці крові. Доведено, що посилення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів супроводжувалось різким посиленням процесів продукції цитокінів ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-8, ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4.

Ключові слова: алкоголь, печінка, цитокіни, редокс-система.

АННОТАЦІЯ

Герасименко Е.А. Роль редокс-системы и цитокинов в патогенезе алкогольного поражения печени. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Одесский государственный медицинский университет МЗ Украины, Одесса, 2008.

Диссертация посвящена изучению функционального состояния редокс-системы и установлению особенностей продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови в печени алкоголизированных перед спариванием половозрелых самцов и самок, а также исследованию указанных процессов в онтогенезе первого поколения полученных от них. В ходе выполнения диссертационной работы были обследованы 60 человек с алкогольной болезнью печени и 40 доноров.

В результате проведенных исследований было установлено, что длительное употребление алкоголя самцами и самками половозрелых крыс путем свободного выбора вызывало достоверное увеличение содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в печени и сыворотке крови этих животных по сравнению с контролем. Характерной особенностью было то, что обнаруженные изменения содержания продуктов ПОЛ в печени и сыворотке крови более выраженные были у самок, чем у самцов. Данные изменения перекисного окисления липидов сопровождалось изменениями в системе антиоксидантной защиты. Это проявлялось в снижении активности каталазы и глутатионтрансферазы в эритроцитах крови и печени. Параллельно с этим в печени алкоголизированных самцов и самок отмечалось снижение активности уроканиназы в печени. Исследование сыворотки крови показали присутствие ее в ней, что при физиологических состояниях недопустимо. Указанный факт свидетельствует о деструктивных процессах в печени.

Указанные изменения в системе ПОЛ-АОС сопровождалось изменениями продукции цитокинов. Отмечается усиление спонтанной продукции провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , а также ярко выражено увеличения продукции ИЛ-8, который относится к группе хемокинов.

Подобные по характеру изменения исследуемых процессов были выявлены и при клиническом обследовании мужчин и женщин, которые в течении 10 лет регулярно употребляли алкоголь в дозах больше 40 мг в день. Так у женщин уровень ДК был выше за уровень аналогичных показателей доноров на 60,7% а у мужчин на 40,1%, малонового диальдегида соответственно на 75,6 и 61,7%. Активность каталазы и глутатионтрансферазы в эритроцитах крови была ниже за показатели у доноров соответственно на 39,7 и 48,8% та 24,1 и 22,6%.

При исследовании продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови у самцов и самок полученных от алкоголизованных перед спариванием родителей было установлено что практически на всем протяжении постнатального развития была снижена индуцированная продукция цитокинов, за исключением ИЛ-1 β и ИЛ-8, показатели которых были выше контрольных значений. Это может указывать на мутагенное действие этанола.

У поколения самок и самцов, полученных от алкоголизованных перед спариванием предшественников, начиная с 1-го и по 24 месяц, наблюдалось достоверное увеличение содержания ДК и МДА в печени и сыворотке крови на фоне снижения активности каталазы и ГТ в эритроцитах, и уменьшения активности в печени урoканиназы, тогда как в сыворотке она неуклонно возрастала. Максимальные изменения исследуемых процессов были выявлены у 24-х месячных самок и самцов.

Ключевые слова: алкоголь, печень, цитокины, редокс-система.

SUMMARY

Gerasymenko O.A. The role of the redox-system and cytokines in pathogenesis of alcoholic affection of the liver. – Manuscript.

A thesis for getting a scientific degree of a candidate of medical sciences in specialty 14.03.04 – pathological physiology. Odessa Medical University of Health Ministry of Ukraine, Odessa, 2008.

The thesis deals with investigation of the functional state of the redox-system and establishment of peculiarities of cytokine production in the liver of rat males and females of reproductive age alcoholized before coupling, determination of peculiarities of the course of these processes in ontogenesis of their off springs and establishment of their changes in adult humans of both sexes who have been taking alcoholic drinks for a long time.

As a result of studies it was found that increased content of dien conjugates and malone dialdehyde was observed in the hepatic tissues and blood serum of the alcoholized animals and on the contrary, activity of catalase and glutathionetransferase decreased. Parallely there was observed decreased activity of urokaninase in the liver tissues and its appearance in blood serum which was unpermissible fact under the physiological conditions. Rather significant changes were found in production of cytokines IL-1 β , factor of tumor necrosis- α , IL-8, IL-6, IL-2 and IL-4 in alcoholized rat males and females. Expressiveness of the changes revealed, their direction depended on the kind of cytokine. It is also established that more significant changes were found in rat females.

The processes studied were the same in character in the humans of both sexes who had been taking alcohol for over 10 years.

The results of investigation of the processes of lipid peroxide oxidation, activity of antioxidant enzymes, urokaninase and cytokine production in rat female and males of different age obtained from alcoholized predecessors showed that while aging increased content of dien conjugates, malone dialdehyde in the liver and blood serum and minimal deviations were found in 24-month animals. Parallely the liver and blood erythrocytes were observed to have reduction of catalase and glutationtransferase activity which was evidence of impaired membranes of hepatocytes. The results of investigation of urokaninase activity confirmed this showing that it decreased in the liver tissues and was detected in blood serum. It was proved that enhanced intensity of processes of lipid peroxide oxidation was accompanied by sharp enhancement of production of cytokines IL-1 β , FTN- α , IL-8, IL-6, IL-2 and IL-4.

Key words: alcohol, liver, cytokines, redox-system.