

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ГЕРАСИМЕНКО

Олена Анатоліївна

УДК 616.36-004:615.9-056.83

**РОЛЬ РЕДОКС-СИСТЕМИ І ПРОДУКЦІЇ ЦИТОКІНІВ У
ПАТОГЕНЕЗІ АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ**

(клініко-експериментальне дослідження)

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація

на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор,

завідувач кафедри інфекційних

хвороб з епідеміологіє

Сервецький Костянтин Леонідович

Одеса-2008

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень, використаних в дисертації	2
Вступ	3
Розділ 1. Сучасні уявлення щодо клініки, патогенезу і діагностики алкогольної хвороби печінки	
Розділ 2. Матеріали та методи дослідження	
2.1. Лабораторні тварини та моделювання експерименту	
2.2. Клінічна характеристика пацієнтів з алкогольною хворобою печінки	
2.3. Методи досліджень	
Розділ 3. Особливості взаємозв'язку цитокинової ланки імунітету з редокс- системою за умов алкогольного ураження печінки в експерименті і клініці	
3.1. Стан редокс-системи та цитокинової ланки імунітету за умов експериментального ураження печінки	
3.2. Особливості продукції цитокінів та стан редокс-системи в осіб з алкогольною хворобою печінки	
Розділ 4. Особливості функціонального стану цитокинової ланки імунітету і редокс-системи щурів, отриманих від алкоголізованих попередників	
4.1. Стан редокс-системи у самців і самок різного віку, отриманих від алкоголізованих попередників	
4.2. Продукція цитокінів МНПК у самок і самців різного віку, отриманих від алкоголізованих попередників	
Розділ 5. Результати власних досліджень та їх обговорення	
Висновки	
Список цитованої літератури	

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ, ВИКОРИСТАНИХ В
ДИСЕРТАЦІЇ

1. АОС – антиоксидантна система
2. АХП – алкогольна хвороба печінки
3. ГТ – глутатіонтрансфераза
4. ДК – дієнові кон'югати
5. ІЛ-8 – інтерлейкін-8
6. ІЛ-2 – інтерлейкін-2
7. ІЛ-4 – інтерлейкін-4
8. ІЛ-1 β – інтерлейкін-1 β
9. ІЛ-6 – інтерлейкін-6
10. МДА – малоновий диальдегід
11. МНПК – мононуклеари периферійної крові
12. ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

ВСТУП

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 []. Зловживання алкоголю негативно впливає на усі органи людини, але найбільш підлягає його впливу печінка, оскільки саме тут відбувається окислення етанолу []. У більш віддаленому періоді у осіб, що продовжують вживати алкогольні напої відбуваються структурні і функціональні зрушення центральної нервової системи, серцево-судинній, нейроендокринній та інших “критичних системах” організму [].

Важливим елементом цієї проблеми є і те, що останнім часом в Україні внаслідок погіршення соціально-побутових умов життя зростає кількість молодих сімей, в яких чоловік і жінка вживають в надмірних кількостях алкогольні напої [].

Останнє призвело до того, що у дітей отриманих від таких батьків значно збільшилась кількість різного роду вад розвитку центральної нервової системи, серцево-судинної системи, нейроендокринної системи та розладів психічної діяльності []. Безумовно, таке становище негативним чином впливає на генофонд України, сприяє росту кількості бездоглядних та безпритульних дітей серед яких поширена схильність до спиртних напоїв [] 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. Саме такими “критичними системами” організму є окислювально-відновні процеси та функціональний стан системи цитокінів, для яких характерним є яскраво виражений поліморфізм генів []. На жаль в доступній літературі існують одиничні роботи [], що торкаються дослідження цих процесів у жінок та чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь і практично відсутні у відношенні їх дітей.

Таким чином, дослідження саме цих процесів у батьків, які тривалий час вживали алкоголь до запліднення і жінки, під час вагітності та народжених від них дітей являє собою вирішення вагомої проблеми охорони здоров'я і збереження повноцінного генофонду України. У зв'язку з тим, що дослідження такого роду на людях потребують значних матеріальних і фізичних затрат та тривалого часу, нам уявляється доцільним проведення подібних досліджень на експериментальних тваринах з наступною їх екстраполяцією на людину.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Матеріали дисертаційної роботи є фрагментом науково-дослідної програми кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією Одеського державного медичного університету "Вплив стимуляторів інтерферогенезу, імуномодуляторів та еубіотиків на перебіг та наслідки гострих та хронічних вірусних інфекцій та стан біоценозу кишечника (№ держреєстрації 0103U007958). Дисертант є співвиконавцем цієї теми.

Мета роботи. З'ясувати функціональний стан редокс-системи і особливості продукції цитокінів у алкоголізованих перед спарюванням статевозрілих самок і самців щурів та визначити особливості перебігу цих процесів в онтогенезі їх виводку і встановити зміни їх у дорослих жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкогольні напої.

Задачі дослідження:

1. Вивчити вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці і сироватці крові алкоголізованих самок і самців щурів.
2. Дослідити активність каталази, глутатіонтрансферази в еритроцитах крові і печінці та активність уроканінази в печінці і сироватці крові алкоголізованих самок і самців щурів.
3. Дослідити вміст діє нових кон'югатів і малонового диальдегіду у сироватці крові жінок і чоловіків, які понад 10 років вживали алкогольні напої.

4. Вивчити активність каталази і глутатіонтрансферази в еритроцитах крові та активність уроканінази у сироватці жінок та чоловіків, які тривалий час вживали алкогольні напої.
5. Визначити особливості продукції цитокінів МНПК у самців і самок щурів та жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь.
6. Дослідити особливості вмісту дієнових кон'югатів, малонового диальдегіду, активності каталази, глутатіонтрансферази і уроканінази у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників.
7. Вивчити особливості продукції цитокінів МНПК у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі експериментальних досліджень вперше встановлені основні закономірності змін вмісту дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці та сироватці крові самок і самців статевозрілих щурів, які тривалий час вживали алкоголь. Вперше аргументовано доведено, що виявлені зміни вмісту продуктів ПОЛ в алкоголізованих самок були більш виразними ніж у самців. Також вперше доведено, що збільшення вмісту продуктів ПОЛ відбувається на тлі зниження активності каталази і глутатіонтрансферази в еритроцитах крові і печінці алкоголізованих самок і самців, які тривалий час вживали алкоголь. Вперше доведено, що тривале вживання алкоголю викликало зменшення активності органоспецифічного ферменту – уроканінази у печінці алкоголізованих самок і самців, та виявлення їх у сироватці крові, що за фізіологічних умов є недопустимими і є ознакою порушень структури клітинної оболонки гепатоцитів.

Внаслідок проведених досліджень вперше доведено, що збільшення вмісту дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду на тлі низької активності каталази і глутатіонтрансферази і появи уроканінази у сироватці крові супроводжують глибокими зрушеннями процесів продукції цитокінів ІЛ-1 β , ФНПа, 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 і, зокрема, ацетальдегіду.

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

В результаті комплексних досліджень вперше виявлені особливості вмісту дієвих кон'югатів і малонового діальдегіду у печінці і сироватці крові, активності каталази і глутатіонтрансферази в еритроцитах, зниження активності уроканіази у печінці та появи їх у сироватці самок і самців покоління, отриманого від алкоголізованих попередників та встановлені особливості змін продукції цитокінів. Отримані дані свідчили що наявність у цьому поколінні патологічних змін в печінці, які негативно впливали на розвиток організму та сприяли виникненню генетично детермінованої схильності до алкоголю.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі проведених досліджень і отриманих результатів були розкриті раніше невідомі механізми патогенезу алкогольної хвороби в експерименті і клініці. Доведено, що виявлена активність уроканіази у сироватці крові алкоголізованих щурів супроводжується зниженням її у гепатоцитах і може бути використана в якості експрес-діагностики ступеню деструктивних змін у печінці. Підтвердженням цього була наявність високих значень активності уроканіази у сироватці жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь, що не відповідало показникам здорових людей.

Обґрунтовано 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. Результати цих досліджень можуть служити підґрунтям для розробки адекватних методів корекції цих змін у наступних поколіннях.

Результати цих досліджень можуть бути використаними у спеціалізованих наркологічних відділеннях і стаціонарах.

Основні положення дисертаційної роботи втілені до навчального процесу кафедр інфекційних хвороб з епідеміологією, клінічної імунології, генетики і медичної біології, загальної і клінічної патологічної фізіології, гістології, ембріології та цитології Одеського державного медичного університету.

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

Публікації. За темою дисертації опубліковано наукових робіт, з яких статті у фахових виданнях ВАК України, у збірках конференцій, симпозіумів та з'їздів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на сторінках машинопису і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень 3-х розділів власних досліджень, висновків та списку цитованої літератури. Робота ілюстрована 40 таблицями. Бібліографія містить вітчизняних та російськомовних та іноземних джерел.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО КЛІНІКИ, ПАТОГЕНЕЗУ І ДІАГНОСТИКИ АЛКОГОЛЬНОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ.

(Огляд літератури)

Алкогольна хвороба печінки являє собою ураження печінки, що виникає під впливом систематичного вживання алкоголю. Ця патологія відноситься до токсичних уражень печінки. Пошкоджуючими факторами, які впливають на структуру і функцію печінки є компоненти, які містять алкогольні напої: етанол (головний компонент), інші спирти, альдегіди, органічні сполуки []. У різних країнах небезпечність для здоров'я внаслідок зловживання алкоголю оцінюються по різному. Вповні небезпечною для людини Національна академія медицини Франції [] вважає добову дозу етанолу 38-60 г для чоловіків і 16-38 г для жінок. Департамент охорони здоров'я Великої Британії [] встановив, що небезпечна добова доза етанолу складає не більше 24 г для чоловіків і 16 г для жінок. Згідно даних ВОЗ [] зазначені дози дорівнюють 20-40 г/доб для чоловіків і до 20 г/доб для жінок. Згідно існуючих даних, гепатотоксичність різних доз алкоголю для чоловіків: відносно небезпечна – 30 мл (75 мл горілки) на добу, загрозна – 80-160 мл спирту (200-400 мл горілки) на добу і дуже загрозна – більше 160 мл (400 мл горілки) на добу. Дози для жінок складають $\frac{2}{3}$ від зазначених для чоловіків.

Відомо [], що метаболізм етанолу відбувається гепатоцитах за участю трьох спеціальних ензимних систем: цинкмістний фермент – алкогольдегідрогеназа (локалізована у цитозолі – рідкій частині цитоплазми); цитохром P450 – залежна мікросомальна етанолокислююча система (нормалізується у мікросомах гладкого ендоплазматичного ретикулуму) і поряд з метаболізмом алкоголю приймає участь у дезінтоксикації лікарських препаратів; каталазна система, що окислює алкоголь (знаходиться у цитоплазмі і мітохондріях). При низьких концентраціях у крові етанолу вмикається алкогольдегідрогеназа і цитохром P450 - залежна мікросомальна

етанолокислююча система. За умов високих концентрацій алкоголю у крові метаболізм етанолу відбувається за рахунок цитохром Р450 – залежної і каталазної систем [].

На теперішній час вивчені патологічні впливи алкоголю на органи і системи людського організму. Вони досить різнобічні і включають ураження печінки, серцево-судинної і нервової систем. Проте необхідно зазначити, що у найбільшому ступені при цьому зрушується структура і функція печінки. Систематичне вживання алкоголю приводить до гіперфункції ензимних систем, що в свою чергу викликає цілий ряд інших порушень []. Так, гіперфункція ферменту алкогольдегідрогенази приводить до гіперацидоземії, кетонемії, кетонурії і гіпоксимії печінки. Гіперфункція мікросомальної етанолокислюючої системи призводить до гепатомегалії, гіперліпідемії і жирового гепатозу (надлишкової продукції ліпідів і нейтрального жиру при блокаді вилучення їх з печінки приводить до надмірного їх накопичення) []. Накопичення ацетальдегіду в гепатоцитах викликає стимуляцію процесів перекисного окислення ліпідів та появи надмірних кількостей вільних радикалів, що сприяє пошкодженню гепатоцитів []. У печінці при ушкодженні гепатоцитів знижується синтез ДНК, альбуміну і білків. Відбувається утворення і накопичення алкогольного гієліна, який в свою чергу сприяє посиленню аутоімунних реакцій, геперпродукції протизапальних цитокінів і підтримці запалення та стимуляції процесів фіброгенезу. При активному перебігу запального процесу відбувається масовий некроз гепатоцитів і заміна печінкової тканини фіброзною, або циротичною [].

Найбільше підлягали пошкодженню клітинної мембрани гепатоцитів. Молекулярні механізми пошкодження клітинних мембран гепатоцитів включають: зниження текучості і підвищення їх проникності, порушення включення глікопротеїдів до мембрани, порушення зв'язування і включення крупних лігандів, порушення транспорту малих лігандів, порушення функції мембранних ферментів, утворення аномальних мітохондрій, зміни

антигенних властивостей мембрани []. Такі зміни відбувається на тлі різного зростання активності вільнорадикального окислення, накопичення надмірних кількостей продуктів перекисного окислення ліпідів. і, напроти, рівень антиоксидантів у крові і багатьох органів різко знижений [], а активність ферментів антиоксидантної системи змінена, при цьому направленість змін не однакова для різних ферментів і в різних органах залежить від тривалості вживання алкоголю []. В той же час необхідно підкреслити, що наведені дані стосуються кількох окремих ферментів антиоксидантної системи і не віддзеркалюють механізми функціонування, якщо не усієї АОС, то, по крайній мірі, вузлових її механізмів. Між іншим, необхідно підкреслити, що наведені результати в основному торкаються крові і не підтверджені дослідженнями цієї системи у самій печінці.

У цілому ряді досліджень стану антиоксидантної системи клітин імуніфагоцитарної системи при алкоголізмі дозволили виявити ряд відхилень. Між іншим при цілому ряді захворювань, при яких спостерігається імуносупресія, в імунних клітинах також відбуваються значні зміни активності антиоксидантних ферментів [], що ще раз підтверджує існуючу думку про неспецифічність такої реакції, і очевидно, що такі дослідження потребують уточнення і виявлення взаємозв'язку зі змінами органоспецифічних процесів.

Іншим важливим наслідком зміни текучості мембран під впливом етанолу являються зміни синтезу простагландинів у різних тканини та тварин [], проте дані про направленість цих зрушень протеречиві: відмічено як зниження, так і збільшення, що очевидно обумовлено відмінностями у використаних експериментах різних авторів концентрацій етанолу, а також тривалості і засобу його використання. Відомо [], що простагландини є фізіологічними регуляторами багатьох внутрішньоклітинних процесів. Ці факти дають підставу зробити припущення про участь простагландинів в регуляції активності антиоксидантних ферментів, але їх роль потребує також уточнення.

Алкогoльнa хворoбa печінкa включae декількa клінічних форм: адаптивну гепатопатію (гепатомегалію), алкогoльний жирoвий гепатоз, алкогoльний гепатит, алкогoльний фіброз печінкa, алкогoльний цироз печінкa і гепатоцелюлярну карциному алкогoльного генезу []. Згідно з сучасних даних [] по поширеності зазначені клінічні форми мають досить істотні відмінності. Найбільш часто діагностують жирoвий гепатоз – в 60-70% випадків [], на долю алкогoльного гепатозу і цирозу припадає по 30% усіх випадків алкогoльної хворoби печінкa, адаптивна гепатопатія і гепатоцелюлярна карцинома складають 20 і 5-15% відповідно [].

Алкогoльнa адаптивна гепатопатія є найбільш легким ураженням печінкa, що розвивається під впливом алкогoлю. При цій клінічній формі, як правило, відсутні суб'єктивні прояви або їх виразність мінімальна, можливе незначне збільшення печінкa. Функціональні проби печінкa практично не змінені. Характерним для цієї стадії є підвищення вмісту в крові ферменту гаммаглутамілтранспептидази. У тканинах печінкa вивляється гіперплазія ендоплазматичного ретикулуму []. За умов алкогoльної адаптативної гепатопатії зміни у печінці є зворотніми []. Алкогoльний жирoвий гепатоз відрізняється наявністю скарг на біль і важкість у правому підребер'ї, непереносимість жирних страв, яку відзначають 50% хворих, слабкістю і зниженням працездатності. Розміри печінкa збільшені: має місце помірна гепатомегалія, структура печінкa однорідна, за даними ультразвукового дослідження – підвищена її ехогенність. Функціональні проби печінкa при цьому мало змінені: можливі помірні підвищення у крові активності аланінамінотрансферази, аспаргатамінотрансферази, лужної фосфатази, білірубіну, жовчних кислот, ліпопротеїдів. При цій формі спостерігаються морфологічні зміни у печінці: гепатоцити містять характерні включення []. Встановлено [], що зазначені зміни у печінці можуть підлягати зворотньому розвитку.

Алкогoльний гепатит являє собою гостре, або хронічне ураження печінкa запального характеру. Хронічний алкогoльний гепатит

супроводжується біллю у правому підребер'ї, виразною емоційністю, диспепсичними проявами, гепатомегалією і жовтяницею. Функціональні проби: аспартатамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза, Ig A, білірубін печінки, як правило, підвищені. У тканинах печінки спостерігаються запальні зміни різного ступеню виразності – від помірної інфільтрації до мостовидних і мільтимобулярних некрозів, сполучення ознак запалення з фіброзом. Характерною морфологічною ознакою цієї форми алкогольної хвороби печінки є утворення перивезикулярного алкогольного гіаліна (кілець Меллорі) []. Такі зміни вважаються незворотніми і при продовженні дії алкоголю можлива трансформація до цирозу печінки. Слід підкреслити, що у підтримці запального процесу у тканинах печінки навіть після завершення систематичного вживання алкоголю відіграє роль цілий ряд імунних факторів, як гуморальних, так і клітинних []. Серед гуморальних факторів необхідно відзначити: підвищення рівня Ig A, які відкладаються по ходу синусоїдів печінки; утворення циркулюючих антиядерних і антигладком'язевих антитіл; антитіл до мембрани печінкових клітин; асіалопротеїду, специфічному печінковому протеїну – LSP; до неоантигенів і алкогольному гіаліну. Серед клітинних факторів – сенсibiliзація Т-клітин ацетальдегідом і алкогольним гіаліном; гіперпродукція цитотоксичних лімфоцитів []. Останнім часом виявлена [] важлива роль запальних цитокінів у розвитку і підтримці запального процесу у тканинах печінки за умов алкогольного гепатиту []. Її індукторами вважають є [] ендотоксин і реактивний кисень, які утворюються безпосередньо при метаболізмі етанолу. Гіперфункція імунної системи можливо відіграє роль медіатора алкогольного пошкодження печінки []. Протизапальні цитокіни посідають основне місце у міжклітинних взаємодіях і регуляції імунних порушень; приводять до загибелі гепатоцитів шляхом некроза. На сьогоднішній день аутоімунні реакції розглядаються як фактор прогресування захворювання навіть після завершення вживання алкоголю [].

Алкогольний фіброз печінки характеризується наявністю помірно виражених суб'єктивних симптомів, тривала помірна біль у правому підребер'ї, явища диспепсії, загальна слабкість, помірна гепатомегалія. Це супроводжується виразними ознаками білкової і вітамінної недостатності. Оскільки алкогольний цироз печінки розвивається при тривалому вживанні алкоголю, у таких хворих існують ознаки хронічної алкогольної інтоксикації: нейропатія, м'язова атрофія, гіпердинамічний кардіальний синдром. У печінці спостерігається розростання сполучної тканини. Для цієї форми характерна трансформація печінкової паренхіми до псевдочасточки []. Зміни у печінковій паренхімі є незворотніми.

Гепатоцелюлярна карцинома алкогольного генезу обумовлена декількома факторами. У алкоголіків мало виявлені такі канцерогени як пропанол, метилбутанол, поліциклічні вуглеводи []. Етанол активує мікросомальні ензими і сприяє біотрансформації проканцерогенів до облігатних канцерогенів, мутагени і тератогени. Разом з тим, етанол сприяє проникненню канцерогенів до тканин. Суб'єктивні прояви аценокарциноми є загальна слабкість, виснаження, важкість і біль у правому підребер'ї і анорексія. Виразна гепатомегалія дерев'яної щільності, жовтуха, астения, портальна гіпертензія і лихорадка можуть також бути проявами аденокарциноми печінки. При цьому характерним являється підвищення в крові активності лужної фосфатази, ШЗЕ, α -фетопротеїна, збільшення кількості лейкоцитів [].

Отже, наведені вище факти свідчать про те, що алкоголізм і інші хвороби залежності від психоактивних сполук краще усього відповідає розумінню мультифакторіального захворювання, при яких припускається існування спадкової схильності, атому і виникає необхідність більш детально зупинитися на цих положеннях.

Стійка і патологічна тяга до алкоголю – один із основних специфічних симптомів алкоголізму. На теперішній час встановлено [], що феномен переваги етанолу тваринами в експерименті і схильність до зловживання

алкоголю у людей зв'язані з інтенсивністю обміну етанолу в організмі []. При цьому важлива роль у механізмах розвитку залежності і проявлення поведінкових ефектів етанолу відводиться першому проміжному продукту його обміну – ацетальдегіду – як психофармакологічному агенту, що приймає участь у синтезі ендогенних морфоподібних сполук []. Досліджена підкріплююча дія ацетальдегіду і його здібність викликати позитивний емоційний стан – ейфорію, яка лежить в основі патологічної тяги до алкоголю []. Існує думка [], що механізм цієї тяги зв'язаний з локальним рівнем ацетальдегіду в мозку, що виникає при вживанні етанолу і який залежить від активності систем метаболізму етанолу і ацетальдегіду в печінці і головному мозкові []. З іншого боку, ацетальдегід є високотоксичною сполукою, стимуляція якого в організмі може гальмувати подальше вживання алкоголю [].

У генезі алкоголізму етанол може виконувати значну кількість інших функцій, наприклад, він є модифікатором амінних і сульфгідрильних груп у білках []. Етанол і ацетальдегід приймає участь у підтримці гідрофобності білків, мембран та забезпеченні визначеної текучості мембран []. Накінець, етанол і ацетальдегід можна розглядати, як двовалентні радикали, здібні конкурентно взаємодіяти зі значною кількістю інших двовуглецевих молекул на рівні активних центрів ферментів, транспортних білків або специфічних рецепторів []. Запропонована концепція, яка розглядає молекулярні механізми дії ендогенного і екзогенного етанолу як опосередковані через дію ацетальдегіду на біоенергетичні процеси в мітохондріях []. Оцінка існуючих відомостей про функції етанолу і ацетальдегіду дозволила висловити думку проте, що їм необхідно відвести провідну роль в патогенезі алкоголізму і алкогольного ураження усіх органів і систем [].

У медико-біологічних проблемах алкоголізму на сьогоднішня відрізняють його передтечу і наслідки. З генетичної точки зору, передтеча – це контроль метаболізму етанолу в організмі людини, тобто наявність спадкоємних факторів, які сприяють виникненню алкоголізму як хвороби, а

наслідки – це безпосередньо пошкоджуюча дія алкоголю на організм у цілому []. Психічні і соматичні розлади у хворих на алкоголізм виникають внаслідок тривалого прийому алкоголю у великих дозах, оскільки етанол володіє виразною органотропністю. Патогенетичні механізми ураження органів і систем багаточисленні, багатоваріантні, динамічні і до кінця не досліджені. Пошкоджуються практично усі види обміну – енергії, білків, жирів і вуглеводів []. Уражуються функції всіх органів – мозку, серця, печінки, нирок, легень; страждають усі види регуляції діяльності організму – нервової, ендокринної, метаболічної та інші []. Ввиду поліорганної патології з'ясувати всі патогенетичні механізми, синтезувати цю інформацію і контролювати її у динаміці практично неможливо.

Алкогольне ураження печінки є найважливішим наслідком патологічної дії алкогольної інтоксикації []. Причина найбільшої схильності печінки до токсичного впливу етилового спирту полягає в тому, що саме цей орган, який виконує бар'єрну функцію, відіграє ключову роль у процесах детоксикації ксенобіотиків. Згідно Міжнародної класифікації хвороб десятого перегляду, існує декілька нозологічних проявів алкогольної хвороби печінки: жирова дистрофія печінки, гепатит, цироз печінки, які, як уже зазначалось вище, об'єднуються єдиними етіологічними і патогенетичними зв'язками з алкогольною інтоксикацією. Етанол відносять до прямих гепатотоксичних агентів і його небезпечні і безпечні дози, як зазначалось, визначені. В той же час, прямої корекції між ступенем ураження печінки і кількістю алкоголю, який вживався, не було виявлено. Слід зауважити, що більшість дослідників вважає [], що вживання щоденно 40-80 г етанолу на протязі 10-12 років приводить до ризику виникнення алкогольної хвороби печінки. Проте від тяжких уражень печінки - гепатиту і цирозу – страждає майже 50 % осіб, що вживали алкоголь у небезпечних дозах []. Останні факти, очевидно, є свідченням того, що до патогенезу алкогольної хвороби, окрім прямого токсичного ефекту етанолу, втягнуті спадкові фактори та вплив навколишнього середовища.

У жінок алкогольне пошкодження печінки розвивається при менших дозах алкоголю, за більш короткий період і протікає більш важко ніж у чоловіків. Летальність від цирозу печінки у жінок також вища. Допускається, що це пов'язано з більш низької концентрацією шлункової фракції ферменту алкогольдегідрогенази, із-за чого до печінки жінки надходить більша кількість етанолу ніж у чоловіків []. На цей процес впливають і гормональні фактори []. Дефіцит харчування не відносять до серйозних факторів ризику розвитку алкогольної хвороби печінки []. Проте в експерименті було виявлено, що деякі зрушення у дієті, і, зокрема, вживанні в їжі тугоплавних жирів і низький вміст у ній вуглеводів, сприяють розвитку ураження печінки []. Необхідно відзначити, що зловживання алкоголем підвищує ризик інфікування вірусом гепатиту С, який впливає на розвиток ураження печінки з більш важкими морфологічними ознаками і більш високою летальністю порівняно з неінфікованими особами [].

Всмоктування та метаболізм етанолу, як і усіх хімічних сполук, виконується специфічними ферментами, активність яких генетично детермінована. Можна очікувати, що схильність до алкоголізму і розвитку алкогольної хвороби печінки пов'язана з генами ферментів, які приймають участь в метаболізмі етилового спирту. У зв'язку з цим дослідження поліморфізму генів, продукти яких відповідальні за стан системи детоксикації етанолу у хворих на алкогольну хворобу печінки являє особливу значущість.

Відомо [], що етанол окислюється, головним чином, у печінці, де метаболізується 75-98% введеного до організму алкоголю. Швидкість розщеплення у печінці до кінцевих продуктів – вуглекислоти і води – складає 0,1 г чистого алкоголю на 1 кг маси тіла за годину у чоловіків, тоді як у жінок вона на 10% нижча. Доросла людина масою 70 кг може метаболізувати на протязі доби до 160 г чистого алкоголю і при цьому утворюється 1200 кКал []. Біологічне знешкодження алкоголю у печінці відбувається у трьох напрямках і являє собою складний біохімічний процес.

На першому етапі етанол перетворюється в ацетальдегід з вивільненням водню. Цю реакцію каталізує фермент алкогольдегідрогеназа, коферментом якої є нікотинамідаденіндинуклеотид – NAD^+ . При цьому відбувається дегідрування етанолу з утворенням ацетальдегіду і відновленого коферменту NADH []. На другому етапі ацетальдегід за допомогою мітохондріального ферменту ацетальдегіддегідрогенази, коферментом якої також служить NAD^+ , перетворюється до ацетату. NAD^+ при цьому, як і на попередньому, етапі відновлюється до NADH . Переносимість алкоголю і ризик виникнення вад здоров'я є дуже індивідуальними і у значній мірі залежить від ступеню активності цих ферментів, яка запрограмована генетично. Власники високоактивного першого ферменту можуть переносити алкоголь у великих дозах, а пасивного другого – страждати від важкого постінтоксикаційного синдрому і переносимості алкоголю [].

У той же час виявлена шлункова фракція алкогольдегідрогенази надає підстави вважати шлунок першим органом, у якому відбувається окислення етанолу. У слизовій оболонці шлунка відбувається перший етап метаболізму алкоголю за участю шлункової фракції ферменту, яка відноситься до IV класу алкогольдегідрогенази, який відсутній у печінці. У шлунку лімітується визначена кількість алкоголю, що проникає до печінки з порталним кровотоком, що потенційно попереджує її алкогольне пошкодження. Відомо [], що активність шлункової алкогольдегідрогенази у жінок порівняно з чоловіками понижена. Зниження активності ферменту характерно і для осіб обох статей, які тривалий час зловживали алкоголем [].

У доповнення до основного шляху окислення етанол може метаболізуватись також і у мікросомах за допомогою так званої мікросамальної етанолокислюючої системи. Встановлено [], що алкогольдегідрогеназа метаболізує три четверті, а мікросомальна етанол окислююча система одну чверть етанолу в організмі. В осіб, що зловживають алкоголем, основне значення має саме цей шлях. Цитохром P-450 – залежна мітохондріальна етанолокислююча система локалізована у мікросомах

гладкого ендоплазматичного ретикулу. Тривале вживання алкоголю стимулює продукцію ізоферменту цитохрому P-450 C P2E1, що вірогідно призводить до більш швидкої елімінації етанолу у хворих на алкоголізм, формуванню більшої кількості його токсичних метаболітів, посиленню процесів перекисного окислення ліпідів і пошкодженню клітин печінки []. Необхідно також підкреслити, що цитохром P-450 - залежна мікросомальна етанол окислювальна система, поряд з метаболізмом алкоголю приймає участь в детоксикації лікарських препаратів (наприклад, ацетамінофена, нітрозамінів) []. Цим пояснюється ряд характерних феноменів лікарської толерантності у період надлишкового вживання алкоголю. Мікросомальна етанолокислювальна система відіграє незначну роль у метаболізмі невеликих кількостей алкоголю, але індукується при його надлишкові і набуває істотного значення при зловживанні ним [].

Каталазна система, що окислює етанол, знаходиться у периксисомах цитоплазми і мітохондріях. Роль цієї системи є другорядною. Проте ряд авторів указує на зростання значимості даної системи у метаболізмі етанолу при зловживанні ним [].

Виділяють прямі і непрямі ефекти впливу етанолу на печінку, яка є основою алкогольних уражень органа: дезорганізація структури ліпідів клітинних мембран, яка призводить до адаптивних змін їх структури; пошкоджуючий ефект ацетальдегіду; порушення знешкоджуючої функції печінки по відношенню до ендогенних токсинів; порушення імунних реакцій; підвищення коллагенозу; стимуляція канцерогенеза [].

При хронічному вживанні алкоголю зменшується здібність мітохондрій окислювати ацетальдегід. Внаслідок цього наступне вживання алкоголю викликає збільшення дисбалансу між утворенням і деградацією ацетальдегіду. Виникає вадне коло: збільшення концентрації ацетальдегіду в крові і печінці приводить до ще більшого ураження окислювальної функції мітохондрій. Ефект токсичного впливу активного метаболіту етанолу – ацетальдегіду – викликаний цілим рядом його властивостей. Ацетальдегід

викликає виразний вплив на синтез альбуміну, трансферритину, а також порушує метаболізм кофакторів ферментів – піродоксина фосфата, холіна, цинку та вітаміна E []. Ацетальдегід гальмує секрецію печінкових білків, що очевидно, віддзеркалює кількість полімеризованого тубуліну. Можливо, що місцем точного прикладення токсичності ацетальдегіду є система печінкових мікротрубочок. Тубулін, модифікований ацетальдегідом *in vitro*, не полімеризується з утворенням мікротрубочок. У зв'язку з тим, що мікротрубочки приймають участь у внутрішньоклітинному транспорті і синтезі білків тривале вживання алкоголю порушує цю секрецію і викликає затримку білків у печінці []. Патологічним феноменом, що відображує пошкодження цитокератину гепатоцитів під впливом ацетальдегіду, є балонна дистрофія з утворенням тілець Маллорі, що представляє агрегацію філаментів цитоскелету з формуванням “алкогольного гіаліну”. Утворення тілець Маллорі провокує запалення і фіброз []. У якості одного із тригерних механізмів агрегації цитокератинів розглядається дефіцит вітаміна B₁. Механізм токсичної дії ацетальдегіду, що активує перекисне окислення ліпідів, зв'язані зі взаємодією ферменту з цистеїном і/або глутатіоном. Це приводить до зменшення доступності вільного відновленого глутатіону – основноантитоксичної сполуки клітин []. Порушення механізму окислення – відновлення глутатіону виникає накопичення вільних радикалів. Внаслідок чого активуються процеси перекисного окислення ліпідів у гепатоцитах [].

На сьогоднішній день достатньо добре досліджено генетичний контроль синтезу двох основних ферментів метаболізму етанолу у людини: алкогольдегідрогенази і ацетальдегіддегідрогенази []. Як зазначалось вище алкогольдегідрогеназа перетворює етанол в ацетальдегід, а також каталізує зворотню реакцію, ацетальдегіддегідрогеназа несе відповідальність за незворотне перетворення ацетальдегіду до ацетату []. Безумовно, функції цих двох ферментів є значно інертними ніж участь у метаболізмі етанолу. Наприклад, алкогольдегідрогеназа каталізує NAD-залежне окислення вітаміну A, гліцерину, метаболітів серцевих глюкозидів (диктоксину,

дигоксина). Конкурентна взаємодія алкоголю з серцевими глікозидами підвищує загрозу їх побічного ефекту у осіб, які приймають великі дози алкоголю. Алкогольдегідрогеназа вперше отримана з пивних дріжджів у 1937 році, а у 1955 - з печінки людини. Алкогольдегідрогеназа печінки людини – це димер, який утворюється з двох субодиниць з молекулярною масою 40 кДа і довжиною 374 амінокислотних залишки кожна []. Усього таких субодиниць є 5 типів. Субодиниці α , β і γ , сполучуючись в гомо- і гетеродимери, утворюють фермент алкогольдегідрогеназу 1 класу []. Субодиниця α мономорфна, субодиниця β має 3 ізоформи, γ – 2 ізоформи []. Відмінності між варіантами окремих субодиниць дуже незначні і, як правило, вичерпуються заміною однієї, або двох амінокислот у поліпептидному ланцюгу. Необхідно зазначити, якщо амінокислота заміщується в функціонально активному підрозділі субодиниць, різко змінюються властивості ферменту. Якщо ж стає іншою структура неактивної ділянки субодиниці, таких змін не відбувається. Ці факти ілюструють відмінності між субодиницями γ_1 і γ_2 у 369 позиціях поліпептидного ланцюгу []. Алкогольдегідрогеназа II класу є гомодимер, котрий утворюється із субодиниць π (π_1 і π_2). Алкогольдегідрогеназа III класу складається із двох варіантів субодиниці χ (χ_1 і χ_2) []. За своєю амінокислотною послідовністю структури, ензиматичним та імунологічним властивостях обидва цих ізофермента відрізняються від алкогольдегідрогенази I класу значно більше, ніж окремі ізоферменти I класу відрізняються між собою [].

Відомо [], що алкогольдегідрогеназа (АДГ) I і II класу синтезується переважно у печінці. При цьому α -поліпептид утворюється, головним чином, у плода, а усі наступні субодиниці – у печінці дорослої людини []. Що стосується АДГ III класу, то її можна виявити у більшості тканин людського організму, як в ембріональному періоді розвитку, так і під час подальшого онтогенезу, проте цей фермент не відіграє істотної ролі в утилізації етанолу []. Шлункова фракція, яка відсутня у печінці відноситься до IV класу АДГ, виявлена у слизовій оболонці шлунка []. Тут відбувається перший етап

метаболізму алкоголю ще до надходження його до печінки з порталним кровотоком [].

АДГ є одним із головних ферментів, що метаболізує етанол. Кожна із 5 субодиниць АДГ кодується окремими генами, які називаються АДН1, АДН2, АДН3, АДН4 і АДН5 відповідно субодиницям α , β , π , χ []. Гени АДН1, АДН2 і АДН3 розташовані у тісній близькості один до одного на довжину плечі хромосоми 4 на ділянці, яка позначається 4q21 – 4q25 []. На цій же ділянці хромосоми 4 локалізований ген АДН5. цікаво, що згідно відомим на цей час даним [] в області ДНК, що знаходиться у безпосередній близькості до генів АДГ, розміщуються гени, які кодують сполуки, що не мають значення для патогенезу алкоголізму.

Відповідно поліморфізму ізоферментів АДГ відзначається поліморфізм алелей генів, що кодують ці ферменти []. Відомо [], що заміна аргініну на гістидін у 47 поколінні поліпептидного ланцюгу обумовлена транзицією $A \rightarrow G$ у 215-й позиції ензона 3 гену АДН2, що асоційовано з підвищенням активності так званого атипового ферменту АДГ2 []. Встановлено [], що атипова АДГ2, яка являє собою гомодимер $\beta_2\beta_2$, внаслідок високої активності викликає швидкий підйом рівня ацетальдегіду в організмі після прийому алкоголю. Ген АДН2 має 3 алелі [], які відповідають за субодиниці β_1 , β_2 і β_3 зазначених як АДН*1, АДН*2 і АДН*3. будова гена АДН2 характерна і для інших генів АДГ I класу. До складу такого гена входять 9 екзонів і 8 інтронів, а загальна видовженність складає приблизно 15 т.п.н.

Другим ферментом, що відіграє важливу роль у метаболізмі етанолу, є ацетальдегіддегідрогеназа (АЛДГ) I класу. Існує два основних і, по крайній мірі, два мінорних ізофермента АЛДГ, який виділяється із мітохондрій. Має низьку спорідненість до ацетальдегіду і позначається як АЛДГ I. Другий виявляється переважно у цитозолі, має високу спорідненість до ацетальдегіду і позначається як А []. Обидва ці ізофермента є тетраметрами, які складаються з двох нерівних по молекулярній масі субодиниць розміром 54,8 і 54,2 кДа, відповідно однакових по кількості амінокислотних залишків, які

входять до них []. Гомологія нуклеотидних послідовностей генів АЛДГ I і АЛДГ II класів складає приблизно 70% []. Що торкається мінорних ізоферментів АЛДГ III і АЛДГ IV спорідненість до ацетальдегіду, в яких значно вища, ніж у основних АЛДГ, то припускається наявність в них димерної будови [].

Спектр ізоферментів АЛДГ значно варіює в окремих тканинах людського організму []. Так, АЛДГ I і АЛДГ II, переважно визначаються у печінці, нирках, волосяних фолікулах і культурі фібробластів. У еритроцитах виявлена тільки АЛДГ II. АЛДГ III була виявлена у шлунку і легенях, дещо менш інтенсивно вона утворюється також в селезінці, печінці та нирках. АЛДГ IV виділена із печінки, нирок. Окрім того, більш слабкі електрофоретичні полоси цього ферменту виявлені при дослідженнях тканинного гомогенату. серця і кишківника.

Існує дві із форми ферменту АЛДГ I: АЛДГ I і АЛДГ 2 []. Як і у випадку з АДГ існує поліморфізм алелей генів цього ферменту. Найбільш дослідженим є поліморфізм гена ALDH 2, який пов'язаний із заміщенням глутаміну на лізин у 487 положенні поліпептидного ланцюга ферменту внаслідок заміни G – C на A – T 1519 позиції 12 екзона, що супроводжується появою так званої дефектної форми АЛДГ 2 [].

Наявність АДЛГ 2 з низькою спорідненістю до ацетальдегіду приводить до високої концентрації цього субстрату в крові після вживання алкоголю і обумовлює на думку більшості авторів [], „фламинг-реакцію”, що проявляється у виразній гіперемії лица, підвищення температури шкіри, тахікардії, м'язової гіпотонії і деяких інших неприємних симптомах []. Проте не виключено, що в окремих випадках і аномальна цитозольна АЛДГ 2, яка має також низьку активність по відношенню до ацетальдегіду, відіграє якусь роль у цьому явищі, як між іншим і атипова АДГ2, яка внаслідок високої активності викликає швидкий підйом рівня ацетальдегіду в організмі після вживання алкоголю [].

Гени, що кодують субодиниці окремих ізоферментів АЛДГ, розміщуються на різних хромосомах. Гени АЛДГ I класу локалізовані на хромосомі 12, гени АЛДГ II класу – на хромосомі 9, гени АЛДГ III класу – на хромосомі 17 [].

У зв'язку з наявністю поліморфізму генів, що кодують ферменти АДГ і АЛДГ, існують індивідуальні і популяційні відмінності у чутливості (толерантності) до алкоголю. Наприклад, серед окремих популяцій відзначається різний ступінь виразності гострої реакції на етанол (почервоніння лиця, печія у шлунку, м'язова слабкість, тахікардія та ін.), яка значно частіше спостерігається у осіб монголоїдної раси. Знижена активність АЛДГ I японців – у 44%, серед в'єтнамців – у 57% і практично не виявлена у європейців. Атипова АДГ зустрічається тільки у 5 – 10% англійців, досягаючи 85 – 98% у японців і китайців [].

Виникає також питання останнім часом чи впливає вживання етанолу на метаболізм ксенобіотиків? На сьогодні відомо [], що метаболізм ксенобіотиків, як правило, приводить до зниження їх активності – дезактивації, чи детоксикації. Проте у деяких випадках метаболізму ксенобіотиків стають, навпаки, більш активними і навіть більш токсичними. Відомо також [], що в організмі детоксикацію ксенобіотиків виконують спеціальні ферменти системи і мембран-асоційовані рецептори, що регулюють їх активність. У класичному варіанті процес детоксикації включає три послідовні фази.

Спочатку ксенобіотики, що надходять до організму (канцерогени, лікарські препарати, промислові яди і т. ін.), активуються за допомогою ферментів сімейства цитохромів Р-450, утворюючи короткоживучі проміжні електрофільні метаболіти, які володіють гепатотоксичними властивостями (I – фаза). Проте існують і позамікросомальні реакції I фази. Потім ці проміжні метаболіти за допомогою ферментів сімейства глутатіонтрансфераза GST), УДФ-глюкурон-сульфотрансфераз (UDF), N-ацетилтрансфераз (NAT) перетворюються у водорозчинні пентотоксичні продукти (II фаза) і

виводяться із організму (III фаза) []. Процеси зв'язування і виведення ксенобіотиків також необхідно розглядати, як фактори захисту організму від них. Усі основні системи обеззаражування ксенобіотиків індукційні, що має важливе значення для медицини та біології.

Механізми впливу етанолу на метаболізм ксенобіотиків включає селективну індукцію специфічних типів цитохрому P-450 (CY P 2 E 1) і конкурент на інгібування інших типів цитохрому P-450 (CY P 2 D 6), що приймають участь у I фазі обеззаражування ксенобіотиків []. При зловживанні алкоголю спостерігаються також селективна індукція глюкуронілтрансфераз і зниження продукції УДФ-глюконорової кислоти, стимуляція ацетилювання шляхом збільшення концентрації ацетил-КоА у тканинах печінки. Порушення функції мікосомальної етанолокислюючої системи (МЕОС), поряд з підвищеною виробкою ацетальдегіду сприяють зниженню детоксуючої функції печінки по відношенню до екзогенних токсинів. Підвищений оборот і використання глутатіону на детоксикацію ацетальдегіду порушують механізми, що захищають печінку від пошкоджуючої дії реактивних метаболітів. Зокрема, посилення під впливом ацетальдегіду перекисного окислення ліпідів приводить до підвищеного втрачання адеметионіна [].

Група генів детоксикації (I фази) представлено генами суперсімейства цитохрому P-450, яке складається з більш ніж 200 ферментів, які відносяться до 36 різних під сімейств. Цитохроми CY P 2 E 1, CY P 2 A 1 широко представлені у клітинах печінки і приймають участь у метаболізмі більшості ендогенних і екзогенних ксенобіотиків у тому числі і лікарських препаратів []. Відомо [], що тривале вживання алкоголю стимулює продукцію цитохромів P-450 і зокрема CY P 2 E 1 і CY P 2 A 1, вибірково локалізованих у гепатоцитах. Активація МЕОС приводить до посилення процесів перекисного окислення ліпідів і пошкодження печінки внаслідок прискореного метаболізму етанолу на тлі його зловживання [].

Ген CYP2E1 картирований на хромосомі 10 (10% - 24,3) []. Він кодує ензим N₁N-диметилнітрозоаміно- N-диметилазу, який метаболізує етанол і багато відомих проканцерогени, такі як нітрозаміни, що знаходяться в тютюновому димі, органічні розчинники і лікарські препарати, перетворюючи їх в цитотоксичні або канцерогенні продукти []. Він існує у різних тканинах, включаючи мозок, легені, але найвищий рівень експресії встановлений у печінці. У гені CYP2E1, на сьогоднішній день, ідентифіковано декілька поліморфних сайтів. Поліморфізми виявлені за допомогою ендонуклеоз рестрикції RsaI (-1259 G/C) і PstI 9-1019 C/T) локалізовані в 5' - області гена і знаходяться у нерівновісному зціпленні один з другим []. Мутація гена CYP2E1 обумовлена транзицією C→T в позиції -1019 нуклеотидної послідовності промоторної області гена, сприяє синтезу ферменту з підвищеною активністю [], що приводить до прискореного метаболізму етанолу з різким підвищенням рівня ацетальдегіду в крові. Одним з найбільш відомих представників сімейства цитохромів P-450 1A1, що кодується геном CYP1A1. Ген CYP1A1 локалізований на хромосомі 15 (15q 22-24) і кодує лизим арил гідро карбон гідроксилазу. Він метаболізує обширний спектр вуглеводів, у тому числі відомий канцероген бензинпреп. Описаний також одонуклеотидний поліморфізм 7-го екзона гена CYP1A1 (транзиція A→G в позиції 4889), який приводить до заміни амінокислоти ізолейцину на валін в кодоні 462 молекули цитохрому P-450 []. В результаті такої зміни продукується фермент, активність якого майже у 2 рази вище, ніж у висхідному білку, що призводить до збільшення концентрації недоокислених проміжних токсичних метаболітів, накопиченню вільних радикалів, що пошкоджують печінку [].

Головним призначенням II фази детоксикації ксенобіотиків є нейтралізація гідрофільних і в більшості випадків токсичних продуктів I фази. Ферменти II фази існують у всіх клітинах, функціонують при любых шляхах надходження ксенобіотиків виконують або завершують детоксикацію, інколи виправляють помилки I фази []. У цій фазі приймають

участь еноксидгідролази, глутатіонтрансферази, ацетилтрансферази та ін., які перетворюють токсичні проміжні продукти метаболізму I фази в полярні водорозчинні, нетоксичні сполуки, які підлягають виведенню із організму. Більшість цих ферментів знаходиться у гіалоплазмі, частина з них локалізована в мембранах ендоплазматичного ретикулу та мітохондрій. Мікросомальна епоксигідролаза каталізує гідроліз ароматичних і аліфатичних епоксидів до менш активних транс-дигидродіонів. Мікросомальна епоксидгідролаза відіграє важливу роль у захисті печінки від високоактивних похідних епоксидна, що утворюються при зловживанні алкоголю і приводячи до руйнування тканин печінки []. Глутатіон-S-трансферази – мультигенне сімейство відповідних ферментів, яке приймає участь в детоксикації великої кількості електрофільних ксенобіотиків шляхом їх кон'югації з глутатіоном, а також у метаболізмі деяких ендогенних сполук (гормонів, ліпідів, простагландинів, лейкотрієнів) []. Кон'югація з глутатіоном полегшує екскрецію багатьох ксенобіотиків включаючи канцерогени, токсини, лікарські препарати. Глутатіон опосередкована детоксикація відіграє ключову роль у забезпеченні резистентності клітин до надмірних кількостей продуктів ПОЛ, вільним радикалом і у забезпеченні пошкодження ДНК. Мікросомальна глутатіон-S-трансфераза тісно зв'язана з системою цитохрому Р-450, що необхідно для швидкої інактивації цито- і генотоксичних метаболітів. У осіб з функціонально малоактивними ізоформами даного ферменту, які кодуються мутантними алелями гена, частіше розвиваються ураження печінки на тлі зловживання алкоголю [].

III фаза біотрансформації – евакуація, тобто виведення із організму продуктів детоксикації. Механізм виведення ксенобіотиків забезпечується Р-глікопротеїдом (білок багаточисленної лікарської стійкості), що є транспортною АТФ-фазою []. Продукти детоксикації, у тому числі і лікарські препарати, вилучаються з клітини внаслідок гідролізу АТФ. Описані два основних гени багаточисленної лікарської стійкості: MDR 1 і

MDR 2. Продукт гена MDR 1 виявлений в епітеліальних клітинах печінки, нирок, підшлункової залози, мозку, тонкого і товстого кишковика []. Дослідження і характеристика поліморфізмів і мутацій в гені MDR 1, аналіз їх впливу на екскрецію та є потужним інструментом для покращення терапії різних захворювань печінки у тому числі і алкогольного походження.

Не дивлячись на те, що зміни імунітету нерідко обумовлюються бактеріальними і вірусними інфекціями у осіб, які зловживають алкоголем. Останнім часом значна увага надається [] дослідженням імунної системи і встановлення її ролі у розвитку алкогольної хвороби печінки.

У гострій фазі алкогольного гепатиту різко підвищується титр антитіл до алкогольного гіаліну, виявляються антитіла до неоантигенів-білків, змінені в реакції з ацетальдегідом, молоним диальдегідом і вільними радикалами []. Аутоімунні реакції на печінкові антигени можуть запускатись ацетальдегід білковими комплексами [] і розглядаються як основа прогресування хвороб печінки після завершення вживання алкоголю. Про безумовне патогенетичне значення порушень системи клітинного імунітету свідчать сенсibiliзація Т-клітин ацетальдегідом, або алкогольним гіаліном, підвищена продукція цитотоксичних лімфоцитів [].

Як відомо [], хронічне вживання алкоголю веде до ендотоксемії. Ендотоксини є мембранними макромолекулами усіх грамнегативних бактерій. Вони відносяться до класу ліполісахаридів і є ініціаторами локальної і системної запальної відповіді []. Ендотоксемія обумовлена виходом мембранних ліполісахаридів (бактеріальних продуктів) до циркулюючої крові. По порталній вені та печінковій артерії ендотоксини надходять до печінки, де впливають на ендотеліальні клітини синусоїдів, Купферівські клітини і гепатоцити, які є клітинною тріадою, що складає основу наступних запальних реакцій []. Гепатоцелюлярна відповідь на ендотоксемію проявляється продукцією і вивільненням протеїнів гострої фази, пригніченням печінкового синтезу білків, інгібуванням глюконеогенезу, виходом кислих органічних аніонів (лактату), до крові [].

У формі реакції печінки на ендотоксемию відбуваються синтез і секреція первинних медіаторів запалення – цитокінів, серед яких основною протизапальною дією володіють наступні: фактор некрозу пухлин (ФНП- α); лімфотоксин (ЛТ- α); інтерлейкін-8 (ІЛ-8). Усі протизапальні цитокіни є взаємними індукторами: ІЛ-1 посилює продукцію самого ІЛ-1, а також ІЛ-6, ІЛ-8 і т. ін. [].

Протизапальні цитокіни за звичай виступають як синергісти у якості не тільки факторів неспецифічного захисту, але і основи патогенетичних механізмів хронічних інфекцій, індукуючи системні пошкоджуючі реакції в організмі []. Гіперпродукція протизапальних цитокінів – ФНП- α , ЛТ- α , а також інтерлейкінів (ІЛ 1,6,8) – впливає на патогенез пошкодження печінки і поліорганної недостатності у хворих алкогольним гепатитом, так як рівень цих цитокінів у сироватці крові корелюють з важкістю перебігу хвороби [].

Основними продуцентами ФНП- α , ІЛ-6 та ІЛ-8 є Купферівські клітини []. Печінка здібна продукувати значну кількість ФНП- α . Тому всяка реакція запалення супроводжується його виходом до спонтанної циркуляції. Молекули ендотоксинів і ФНП- α індукують нейтрофіли до вивільнення ряду біологічно активних сполук. У зоні запалення вивільняється і концентрується велика кількість перекису водню, активних радикалів кисню, еластази.

Внаслідок чого інгібується активність каталази перексисом (перше за все у гепатоцитах) і пригнічується гепатоцилюлярна активність нейтралізації перекису водню і інших активних радикалів кисню, що утворюються в реакції peroоксидації []. Отже, в період активної секреції цитокінів печінка перетворюється із органа, який повинен вилучати органічні аніони із циркуляції, в орган, збільшуючий їх вміст []. Надлишкова секреція ФНП- α приводить до збільшення об'єму гепатоцитів приблизно на 20% і обумовлює швидке формування гепатомегалії. ФНП- α стимулює захват амінокислот Na^+ -залежними переносниками, що призводить до набряку клітин. ФНП- α сумісно з ІЛ-6 стимулює синтез білків гострої фази: фібриногена, гаптоглобіна, α_2 -мікроглобуліна та ін. []. ФНП- α у сполученні з ІЛ-8

порушує захват Na^+ - залежним транспортером жовчних кислот і секрецію солей жовчних кислот і органічних аніонів до жовчних каналців. ІЛ-8, подібно ФНП- α і ІЛ-1 β , стимулює нейтрофіли [].

Відомо [], що існують механізми проти екзогенного і внутрішньоклітинного окислювального стресів. До протизапальних механізмів відноситься локальна і системна дія ІЛ-10, який також називається макрофагопригнічуючим фактором. Він інгібує надлишкову кількість ФНП- α . ІЛ-10 діє через посередника, яким є циклічний аденозинмонофосфат (цАМФ). Про це свідчить те, що аналоги цАМФ і зокрема дибутирил-цАМФ, пригнічують індукуємі ендотоксином вивільнення ФНП- α []. Протизапальною дією володіють також ліпопротеїди, які зв'язують ендотоксини, знижують їх гепатотоксичність і виводять їх з жовчю []. Роль цитокінів безсумнівна, оскільки вони посідають центральне місце у міжклітинних взаємодіях, регуляції імунних зрушень і проліферативних реакцій при алкогольній хворобі печінки.

Гени, що контролюють синтез ФНП- α і ЛТ- α належать суперсімейству факторів некрозу пухлин, тісно зцілені і локалізуються на короткому плечі хромосоми 6 (6p21.1 – 6p21.3) рядом з генами головного комплексу гістосуміства III класу. У цих генах описано ряд поліморфізмів []. На лініях В-клітин людини було показано, що генетичний поліморфізм, локалізований у положенні –308 промоторної ділянки гена TNF, який характеризується заміною гуаніну на аденін (-308 G/A), асоційований з підвищеною секрецією генома *in vitro* і присутність алеля G визначає TNF α *2. Дані літератури [] стосовно асоціації поліморфних алелей гена TNF з розвитком захворювання печінки протиречиві. Відомо [], що транзиція G/A у позиції –308 промоторної області TNF супроводжується підвищенням продукції відповідного цитокіну майже в 2 рази. У європейських популяціях частота мутантного алеля –308 A гена TNF варіює, по даним різних авторів, від 8% до 27% [].

Другим медіатором запалення, що відіграє важливу роль у прогресуванні алкогольної хвороби печінки являється ЛТ- α . Найбільш дослідженим є поліморфізм +252 A/G гена LTA. Дана транзиція супроводжується підвищеним рівнем експресії цитокіну у периферійних моноцитах крові []. Поліморфізм +252 A/G гена LTA при захворюваннях печінки досліджений недостатньо. Вірогідна можливість впливу цього поліморфізму на перебіг алкогольної хвороби печінки обумовлена його асоціацією з підвищеною секрецією не тільки ЛТ- α але і ФНП- α , оскільки гени LTA і TNF зцілені.

Підвищена кількість ІЛ-1 також виявляється у хворих на алкогольний гепатит. Секреція ІЛ-1 моноцитами у відповідь на стимуляцію ліпополісахаридами при алкогольній хворобі печінки більше ніж у контрольній групі []. Сімейство ІЛ-1 (ІЛ-1) складається з двох поліпептидів, позначених як ІЛ-1 α і ІЛ-1 β з молекулярною масою приблизно 18 кДа кожний. Обидва поліпептиди кодуються різними генами. Не дивлячись на те, що патологія нуклеотидних послідовностей генів ІЛ-1 α і ІЛ-1 β складає приблизно 16% спектр біологічної активності цитокінів практично однаковий. Окрім цього виявлено третій білок з подібною структурою і здібністю зв'язуватись з рецепторами ІЛ-1, але він біологічно неактивний. Конкуруючи з активними цитокінами за зв'язок з рецептором, цей білок блокує активність ІЛ-1 α і ІЛ-1 β , за що отримав назву рецепторного антагоніста ІЛ-1 (ІЛ-1RN). ІЛ-1 є індукцибельним білком синтез якого розпочинається у відповідь на втілення мікроорганізмів або пошкодження тканин. Він необхідний для розвитку запалення і виконання усього комплексу захисних реакцій, які іменуються у різних типах клітин, в тому числі і в моноцитах, і в макрофагах. Гени, що кодують ферменти сімейства ІЛ-1, локалізовані на довгому плечі хромосоми 2 в області 2q 14 – 2q 21 для обох генів виявлені поліморфні варіанти []. Є припущення [], що гени ІЛ-1 і ІЛ-1RN можуть впливати на перебіг алкогольної хвороби печінки завдяки

здібності впливати на функцію нейтрофілів і хемотаксис, а також стимулювати синтез ІЛ-8 [].

ІЛ-8, що відіграє важливу роль в прогресуванні алкогольної хвороби, виробляється у підвищених кількостях гепатоцитами на тлі хронічного навантаження етанолом, що було встановлено в експериментальних дослідженнях на щурах []. ІЛ-8 викликає нейтрофілію, посилює вивільнення лізосомальних ферментів і експресію молекул адгезії на гранулоцитах []. Тканинний рівень ІЛ-8 у хворих на алкогольну хворобу печінки корелює з нейтрофільною інфільтрацією. Ген ІЛ-8 картирований на довгому плечі хромосоми 4 в області 4q 12 - 4q 13. встановлено декілька одонуклеотидних замін в гені [].

Згідно даних літератури [], існує кореляція між підвищенням в плазмі концентрації ІЛ-6 і виразністю клінічних і біохімічних симптомів алкогольного гепатиту.

Макрофагопригнічуючий фактор, чи ІЛ-10, кодується геном ІЛ-10, який локалізується в області 1q 31-32 довгого плеча хромосоми 1. Ген ІЛ-10 містить 5 екзонів, для нього характерні одонуклеотидні і мікросатенітні типи поліморфізмів []. Виявлено [], що поліморфізми в промоторній частині гена ІЛ-10 приводить до порушень регуляції транскрипції, що погіршує перебіг алкогольної хвороби печінки. Встановлена асоціація визначених алелей поліморфних локусів промоторної ділянки гена ІЛ-10 із захворюваннями печінки []. Зниження секреції ІЛ-10 макрофагами може приводити до вивільнення запальних цитокінів.

У зв'язку з появою даних про значення цитокінів роль імунологічного компонента може розглядатись в контексті генетичної схильності і можливості прогресування алкогольної хвороби печінки після завершення його вживання.

Таким чином, наведені дані свідчать про провідну роль дії алкоголю і його токсичних метаболітів у розвитку алкогольного ураження печінки. Сполучення зовнішньо-середових факторів ризику (зловживання алкоголем)

і генетичної схильності сприяє формуванню алкогольної хвороби печінки. Ідентифікація специфічних поліморфних генів, втягнутих до патогенезу алкогольної хвороби печінки і аналіз їх взаємодії із зовнішньо середовищними факторами ризику є важливою медико-генетичною проблемою, вирішення якої буде сприяти формуванню фундаментальних уявлень про складні механізми алкогольного ураження печінки для своєчасної корекції захворювання.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

2.1. Лабораторні тварини та моделювання експерименту.

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 []. У відповідностей 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 – 200 г. Самок підбирали до експерименту таким чином, щоб вони знаходились на одній стадії естрального циклу, останню визначили за допомогою мазків із піхви [].

Алкоголізація тварин проводилась за методом вільного вибору з використанням 5% водного розчину алкоголю і води [], який на думку більшості авторів є одним з найбільш адекватних по відтворенню алкогольної хвороби. Тварин розміщували в індивідуальних клітках розмірами 20x30x15 см, які були оснащені мірними поїлками з 5% водним розчином спирту та водою, котрі кожний день міняли місцями. Кожний день визначали кількість алкоголю та води, які вживались тваринами. Пристрасть до алкоголю вважали набутою тоді, коли тварини стабільно віддавали перевагу водному розчину алкоголю, і його добове вживання не підлягало різним коливанням. Для виявлення синдрому абстиненції щурів через 2,5 місяці лишали спирту на 7 днів, після чого вони знову мали змогу вільно вибирати між алкоголем і водою. Проводили оцінку поведінкових реакцій на протязі деприваційного періоду і кількість алкоголю, що вживався по відношенню алкоголізації. Відбір самок для запліднення та визначення першого дня вагітності проводили за методиками отримання тварин з точно датованим терміном вагітності [].

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. Кожній експериментальній групі тварин відповідали інтактні тварини одного віку. Щурів забивали під ефірним наркозом шляхом декапітації. Кров збирали до попередньо оброблених гепарином мірних пробірок. Після розтину черевної порожнини вилучали печінку і занурювали її до охолодженого фізіологічного розчину, тричі промивали після чого роздрібнювали охолодженими ножицями і гомогенізували в 0,14 М розчині HCl рН 7,4. Отриманий гомогенат використовували для проведення біохімічних досліджень.

2.2. Клінічна характеристика пацієнтів з алкогольною хворобою печінки.

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 спленомегалія, симптоми портальної гіпертензії.

При біохімічних дослідженнях виявлялось збільшення вмісту білірубіну, підвищення активності АСТ та АЛТ, слід зауважити, що активність АСТ була у декілька разів вища ніж АЛТ. Підвищеною також була активність лужної фосфатази. Спостерігалось також збільшення протромбінового часу, тромбоцитопенія, гіпергамаглобулінемія, гіпоальбумінемія. Зростала швидкість зсідання еритроцитів, макроцитоз еритроцитів, незначний лейкоцитоз, виявлялась гіперурекемія, різко знижувався вміст α -фетопротеїну. Сироваткові маркери вірусів гепатиту В і С

були в усіх випадках негативні та методом ланцюгової полімеразної реакції HBV DNA та HCV RNA не виявлені.

Під час езофагогастродуоденоскопії у більшості випадків виявлявся ерозивний гастрит та езофагіт нижньої третини стравоходу. УЗД органів черевної порожнини у більшості випадків дозволило виявити сплено- і гепатомегалію, розширені судини системи воротньої вени.

Основними скаргами у цих хворих при надходженні до стаціонару були слабкість, втрата апетиту, похудіння.

Із анамнестичних даних встановлено, що більшість обстежених вживали на протязі 10-15 років щоденно алкоголь у загрозованих дозах (більше 40 г етанолу).

2.3. Методи досліджень.

У печінці та крові експериментальних тварин та у крові хворих на алкогольну хворобу печінки проводили дослідження процесів перекисного окислення ліпідів, стан антиоксидантної системи та цитокінової ланки імунної системи. Враховуючи той факт, що в нашому експерименті були використані тканини ембріонів, нами використані мікро модифікація зазначених методик [].

Для визначення вмісту дієнових кон'югатів брали 0,2 мл досліджуваного взірця потім вносили 2 мл суміші гексан – ізопропанол. Герметично закриті пробірки спочатку інтенсивно струшували впродовж 15 хв. Отриманий супернатант вносили до чистих скляних пробірок та додавали 0,5 мл 0,1N HCl і 1 мл гексану, струшували і залишали на 30 хв. для розшарування доз. Відібравши верхній гексанмісткий шар, вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 233 нм в 1 см³ кюветі на спектрофотометрі “СФ-46”. Розрахунки проводили на підставі закону Бугера-Ламбергерта-Бера [].

$$E_{233} = \epsilon \cdot c \cdot l; c = E_{233} / \epsilon \cdot l \quad (2.1)$$

де $\varepsilon = 2,20 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \cdot \text{М}^{-1}$ – молярний коефіцієнт оптичної густини для дієнових кон'югатів; E_{233} – оптична густина розчину, що досліджується; c – вміст дієнових кон'югатів; l – довжина оптичного шляху.

При визначенні вмісту малонового диальдегіду до 0,4 мл гомогенату додавали 0,8 мл дистильованої води; 0,06 мл 5N HCl і 0,3 мл 17% трихлороцтової кислоти. Центрифугували при 4000 об/х на протязі 20хв., після чого супернатант виливали до чистих пробірок та додавали 0,5 мл 0,8% тіобарбітурової кислоти. Після перебування на водяній бані при 100°C на протязі 10 хв. пробірки переносили до крижаної бані. Вимірювання оптичної густини проводили при довжині хвилі 532 нм в 1 см³ кюветі на спектрофотометрі “СФ-46” проти контролю, до якого замість гомогенату вносили 0,4 мл дистильованої води. Розрахунки проводили на основі закону Бугера-Ламбергерта-Бера за формулою:

$$E_{532} = \varepsilon \cdot c \cdot l; c = E_{532} / \varepsilon \cdot l \quad (2.2),$$

де $\varepsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \cdot \text{М}^{-1}$ – молярний коефіцієнт оптичної густини для малонового диальдегіду; E_{532} – оптична густина розчину, що досліджується; c – вміст малонового диальдегіду; l – довжина оптичного шляху.

При визначенні активності каталази до приготовленого *ex tempore* 2 мл 0,03% перекису водню додавали 0,05 гомогенату. Через 10 хв. від початку реакції додавали 1 мл 4% молібдату амонію. Одночасно ставили холосту пробу, в якій замість гомогенату використовували 0,05 мл дистильованої води. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі “СФ-46” в 1 см³ кюветі при довжині хвилі 410 нм для пустої (E_{410O}) та дослідної (E_{410D}) проб проти контролю, і в якому була лише дистильована вода. Активність каталази розраховували за формулою:

$$\text{Каталаза} = E_{410O} - E_{410D} / \varepsilon \quad (2.3),$$

де $\varepsilon = 2,22 \cdot 10^4 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ – мілімолярний коефіцієнт оптичної густини до перекису водню.

Глутатіонтрансферазну (GSH- трансферазну) активність в тканинах печінки та еритроцитах крові визначали по утворенню кон'югатів глутатіону

з 1-хлор-2,4-динітробензонатом []. Реакційна суміш містила 100 мМ к-фосфатний буфер рН 7,01, 1 мМ EDTA. Кінетику утворення кон'югованого глутатіону вимірювали по зміні оптичної густини при 340 нм і висловлювали в нмоль/г тк чи 1 мл еритроцитів.

У тканинах печінки та сироватці крові визначали активність уроканінази. Для визначення активності уроканінази до дослідної пробірки наливають 0,35 мл калій-фосфатного буфера і 0,1 мл уроканата до пробірки з холостою пробєю №2 – 0,35 мл буфера, а до пробірки з холостою пробєю №1 – 0,45 мл буфера. Потім до усіх пробірок приливають по 0,05 мл досліджуваного взірця та інкубують проби 4 години при 37°C. Після інкубації до пробірки з холостою пробєю №2 додають 0,1 мл розчину уроканату і відразу до дослідної і холостої проб вносять по 0,25 мл 0,05 М розчину NaOH. Потім вимірюють оптичну густину дослідної і холостої проби №2 проти холостої проби №1 на спектрофотометрі при довжині хвилі 280 нм в кювета з товщиною робочого шару 1 см.

Активність уроканінази для гомогенатів печінки висловлюють в нмоль уроканінової кислоти, що розложилась з 1 хв. у розрахунку на 1 мл сироватки. Концентрацію уроканінової кислоти в пробі визначають по калібрувальному графіку. Для побудови калібрувального графіку 0,001 М розчин уроканінової кислоти розводять у 20 раз 0,05 М NaOH, потім за допомогою цього розчину лугу готують розведення, що містять 25-150 нмоль у 3 мл. Оптичну густину кожної проби вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 280 нм проти холостої проби.

Для визначення інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β) перші поліклональні антитіла, розведені посадковим буфером 1:100 у кількості 50 мкл іммобілізували на внутрішніх ямках гнучких планшетів для імуноферментного аналізу. Іммобілізацію перших антитіл проводили на протязі однієї години при 37°C при безперервному струшуванні. Після іммобілізації антитіл розчин вилучали і ямки двічі промивали внесенням 100 мкл промивочного розчину до кожної із ямок. До перших двох вертикальних рядів ямок мікро планшета

вносили по 50 мкл стандартів: А – 0 пг/мл ІЛ-1 β , В – 35 пг/мл ІЛ-1 β , С – 75 пг/мл ІЛ-1 β , D – 150 пг/мл ІЛ-1 β , Е – 300 пг/мл ІЛ-1 β , F – 600 пг/мл ІЛ-1 β , G – 1,2 пг/мл ІЛ-1 β , H – 2,5 пг/мл ІЛ-1 β . До усіх інших ямок вносили по 50 вірців. Планшет інкубували на протязі 18 годин при +4°C в холодильнику. Після інкубації розчин з ямок вилучали, а ямки двічі промивали внесенням 100 мкл промив очного розчину. Другі антитіла – моноклональні до ІЛ-1 β , помічені біотином, у розведенні 1:100 вносили по 50 мкл і інкубували вірці з ними на протязі 1 години при безперервному струшуванні при 18°C. Після інкубації розчин з ямок вилучали і ямки двічі промивались внесенням 100 мкл промивочного розчину. Індикаторним механізмом у цьому тесті був кон'югат пероксидази хрому з авідіном, що мав високу спорідненість до біотину, який кон'югований з другими (мноноклональними) антитілами, які використовуються у тесті.

Дослідження проведені на кафедрі гістології ОДМУ під керівництвом професора Напханюка В.К.

Врахування результатів, що визначали активність зв'язаної пероксидази проводили з використанням автоматичного фотометра для мікро планшетів при довжині хвилі 492 нм, виставляючи пильове поглинання по ямках зі стандартом без ІЛ-1 β у розчині.

Кількісну оцінку результатів проводили методом побудови калібрувального графіку з використанням комерційної комп'ютерної програми “Microplate manager”, що віддзеркалює залежність оптичної густини від концентрації для стандартного антигену і дозволяючої порівняння з ним досліджуваних вірців. Чутливість методу складала 20-40 пг/мл.

Для визначення інтерлейкіну-8 (ІЛ-8) перші поліклональні антитіла, розведені посадочним буфером у розведенні 1:100 у кількості 50 мкл іммобілізували на внутрішніх поверхнях ямок гнучких планшетів для ІФА. Іммобілізацію перших антитіл проводили на протязі години при 37°C при постійному струшуванні. До перших двох вертикальних рядів ямок мікро

планшети вносили по 50 мкл стандартів: А – 0 пг/мл ІЛ-1 β , В – 35 пг/мл ІЛ-1 β , С – 75 пг/мл ІЛ-1 β , D – 150 пг/мл ІЛ-1 β , Е – 300 пг/мл ІЛ-1 β , F – 600 пг/мл ІЛ-1 β , G – 1,2 пг/мл ІЛ-1 β , Н – 2,5 пг/мл ІЛ-8. До усіх інших ямок вносили по 50 мкл взірців. Другі антитіла – моноклональні до ІЛ-8, помічені біотином, у розведенні 1:100 вносили по 50 мкл і інкубували взірці з ними на протязі 1 години при безперервному струшуванні при 18°C. Після інкубації розчин з ямок вилучали, а їх промивали двічі внесенням 100 мкл промивочного розчину. Індикаторним механізмом у цьому тесті являє кон'югат пероксидази хрому з авідинном, який мав дуже високу спорідненість до біотину і котрий кон'югований з другими (моноклональними) антитілами, що використовуються у тесті. Урахування результатів, що визначають активність зв'язаної пероксидази, проводили з використанням автоматичного фотометру для мікропланшетів при довжині хвилі 438 нм, виставляючи польове поглинання по ямкам із стандартом без ІЛ-8 у розчині. Кількісну оцінку результатів проводили методом побудови калібрувальної кривої з використанням комп'ютерної програми “Microplate manager”, що відображує залежність оптичної густини від концентрації для стандартного антигену і дозволяючої порівняння з ним досліджуваних взірців. Чутливість методу складала 20-40 пг/мл.

Для визначення ІЛ-4 використовувались тест системи (С.Петербург). Перші моноклональні антитіла були іммобілізовані на внутрішніх поверхнях планшетів для ІФА. До перших двох вертикальних рядів ямок мікропланшети вносили по 100 мкл стандартів ІЛ-4: А – 0 пг/мл, В – 50 пг/мл, С – 250 пг/мл, D – 500 пг/мл. До усіх інших ямок вносили по 100 мкл взірців. Планшет інкубували на протязі години при постійному струшуванні при 37°C. Другі антитіла – поліклональні кролячі у розведенні 1:10 вносили по 100 мкл і інкубували взірці з ними на протязі години при постійному струшуванні при 37°C. Після інкубації розчин з ямок вилучали, а ямки трічі промивали внесенням 300 мкл промивочного розчину. Треті антитіла помічені пероксидазою хрому у розведенні 1:10 вносили по 100 мкл до усіх

ямок мікро планшети і інкубували при 37°C і постійному струшуванні на протязі години. Після інкубації розчин з ямок вилучали, а їх двічі промивали додаванням 300 мкл промивочного розчину. Залишки промивочного розчину вилучали, а планшети двічі промивали дистильованою водою з наступним струшуванням планшета. За 10-15 хвилин до завершення інкубації готували розчин субстрату з барвником. До усіх ямок додавали по 100 мкл розчину субстрату (H₂O₂) з барвником (тетраметилбензидин). Інкубація на протязі 20 хв. при кімнатній температурі у темноті. Зупиняли реакцію додаванням 50 мкл розчину 1N сірчаної кислоти. Врахування результатів, що визначають активність зв'язаної пероксидази, проводили з використанням автоматичного фотометра для мікропланшетів при довжині хвилі 450 нм, виставляючи польове поглинання по ямках зі стандартом без ІІ-4 у розчині. Кількісну оцінку результатів проводили методом побудови калібрувального графіку з використанням комп'ютерної програми "Microplate manager", що відображувала залежність оптичної густини від концентрації для стандартного антигену і дозволяючої порівняння з ним досліджуваних взірців. Чутливість методу складала 20-40 пг/мл.

Для визначення фактору некрозу пухлин – α (ФНП- α) використовували тест-системи (Санкт-Петербург). Перші моноклональні антитіла були іммобілізовані на внутрішніх поверхнях планшетів для ІФА. До перших вертикальних рядів ямок мікро планшети вносили по 100 мкл стандартів ФНП- α : А – 0 пг/мл, В – 50 пг/мл, С – 250 пг/мл, D – 500 пг/мл, Е – 1000 пг/мл. До усіх інших ямок вносили по 100 мкл взірців. Планшет інкубували на протязі години при постійному струшуванні при 37°C. Після інкубації розчин з ямок вилучали, а ямки тричі промивали додаванням 300 мкл взірців. Другі антитіла – поліклональні кролячі у розведенні 1:10 вносили по 100 мкл та інкубували взірці з ним на протязі години при постійному струшуванні при 37°C. Після інкубації розчин з ямок вилучали, а їх промивали двічі внесенням 300 мкл промив очного розчину до кожної з них. Планшети після цього двічі промивали дистильованою водою. За 10 – 15 хвилин до

завершення інкубації готували розчин субстрату з барвником. До усіх ямок додавали по 100 мкл розчину субстрату (H_2O_2) з барвником (тетраметилбензидин). Інкубацію проводили на протязі 20 хв. при кімнатній температурі у темноті. Зупиняли реакцію додаванням 50 мкл розчину 1N сірчаної кислоти. Врахування результатів, що визначають активність зв'язаної пероксидази, проводили з використанням автоматичного фотометра для мікропланшетів при довжині хвилі 450 нм, виставляючи польове поглинання по ямкам зі стандартом без ФНП-а в розчині. Кількісну оцінку результатів проводили методом побудови колібровальної кривої з використанням комп'ютерної програми "Microplate manager", що відображує залежність оптичної густини від концентрації для стандартного антигену та дозволяючого порівняння з ним досліджуваних зрізків. Чутливість методу показала 20 – 40 пг/мл.

Вміст інтерлейкіну-2 (ІЛ-2) визначали за допомогою стандартного тесту підтримки проліферації ІЛ-2 залежної Т-клітинної перевиваємої лінії CTLL-2 (Т-лімфоцити миші). З цією метою клітини CTLL-2 відмивали двічі перед постановкою тесту для виключення впливу остаточних доз ІЛ-2, що підтримують ріст культури. Досліджувані зрізкі вносили до 96-ямкової планшети (Flow) для імунологічних досліджень у розведеннях 1:1, 1:4, 1:6. зрізкі розводили у середовищі RPMI-1640 з 10% сироватки плода корови, 2мМ глютаміну але без стандартного препарату ІЛ-2. Клітини CTLL-2 культивували з досліджувальними і контрольними зрізками на протязі 18 годин. За 18 годин до завершення культивування до культури клітин вносили 3H -тимідин в дозі 5 мк Ки/мл. Після завершення культивування клітини знімали за допомогою харвестера (Flow) на нітроцелюлярні фільтри.

Рівень проліферації клітин в досліджуваних і контрольних зрізках оцінювали по інтенсивності включення 3H -тимідину за допомогою бета лічильника (Rackbeta) і рідинного сцинтилятора. Рівень біологічної активності ІЛ-2 в досліджуваних зразках розраховувати, порівнюючи отримані значення з контрольними зрізками і висловлювали у од/мл.

Вміст інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) визначали за допомогою стандартного тесту підтримки проліферації ІЛ-6-залежної гібридоми миші В9. Для цієї мети клітини В9 відмивали двічі перед постановкою тесту для виключення впливу залишкових доз ІЛ-6, які підтримують ріст культури. Досліджувані взірці вносили до 96-ямкової планшети (Flow) для імунологічних досліджень у розведеннях 1:1, 1:4, 1:6. взірці розводили у середовищі RPMI-1640 з 10% сироватки плода корови, 2 мМ глутаміну. Позитивним контролем були двохразові розведення стандартного препарату ІЛ-6 у тому же середовищі, негативним – середовище RPMI-1640 з 10% сироватки плода корови 2 мМ глутаміну, але без стандартного препарату ІЛ-6. Клітини В9 культивували з досліджуваними і контрольними взірцями на протязі 72 годин. За 18 годин до завершення культивування вносили до культури клітин ³Н-тимідин у дозі 5 мкКи/мл. Після завершення культивування клітин знімали за допомогою харвестера (Flow) на нітроцелюлярні фільтри. Рівень проліферації клітин у досліджуваних і контрольних взірцях оцінювали по інтенсивності включення ³Н-тимідину за допомогою бета-лічильника (Packbeta) і рідинного сцинтилятору. Рівень біологічної активності ІЛ-6 у досліджених взірцях розраховували, порівнюючи отримані значення з контрольними взірцями і висловлювали в од/мл.

Субпопуляційний склад лімфоцитів периферійної крові визначали з використанням комплемент-залежного лімфоцитотоксичного тесту []. Для виявлення різних субпопуляцій лімфоцитів периферійної крові використовували моноклональні антитіла (МКАТ) серії ІКО (НПЦ “Медбіоспектр” Росія): ІКО-90 (анти-CD3), ІКО-86 (анти- CD4), ІКО-31 (анти-CD8), ІКО-1 (анти-HLA DK), ВСА-В20 (анти-CD20), ІКО-105 (анти-CD25), ІКО-116 (анти-CD16).

МКАТ кожної специфічної розпакували до камери Тарасани під шар вазеліну в об’ємі 1 мкл на ямку в трьох паралелях. Завісь лімфоцитів додавали до ямки в об’ємі 1 мкл та інкубували 40 хвилин при 20°C, потім до кожної ямки додавали по 5,0 мкл кролячого комплементу. Інкубацію проводили на протязі

60 хвилин при 20°C. Для забарвлення клітин до кожної ямки вносили по 2 мкл 5% водного розчину еозину, через 2 хвилини проводили фіксацію 5,0 мкл 17% розчину формаліну.

Результати реакції оцінювали за допомогою комп'ютерного мікроскопа Axiostar plus фірми “ Zeizz” (Німеччина), з подальшою обробкою отриманих зображень з використанням програм “Видео-Тест-Мастер-4,0” (С.Петербург, 2003, Росія).

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували критерій Вілконсона-Манна-Уїтні, використовуючи статистичну програму Staclia і Microsoft Exel - 97.

Нерідко при алкогольній хворобі печінки порушуються імунні реакції. Участь гуморальних факторів імунітету у розвитку алкогольної хвороби печінки підтверджується [] підвищенням рівня IgA та інших імуноглобулінів. Відкладенням IgA по ходу синусоїдів печінки, утворенням некротичних антиядерних і анти гладком'язевих антитіл, наявність антитіл до мембран печінкових клітин специфічному печінковому протеїну.

Відомо також [], що в період розпалу гострого алкогольного гепатиту різко підвищується титр антитіл до алкогольного гіаліну, виявляються антитіла до неоантигенів – білкам зміненим внаслідок реакцій з ацетальдегідом, малоновим диальдегідом і вільними радикалами. Аутоімунні реакції на печінкові антигени можуть запускатись ацетальдегід-білковими комплексами.

Зазначені факти, ще раз підтверджують вірність обраного нами напрямку досліджень.

Таблиця 3.1

Вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у сироватці крові та печінці алкоголізованих самців і самок щурів ($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/мл, г)

Умови досліджу		Печінка		Сироватка	
		ДК	МДА	ДК	МДА
Контроль	самки	6,9 ± 0,4	8,5 ± 0,6	3,1 ± 0,2	4,6 ± 0,3
	самці	5,2 ± 0,3	6,8 ± 0,7	2,5 ± 0,1	3,3 ± 0,4
Алкоголізовані	самки	11,6 ± 0,7 167,8	15,3 ± 1,1 179,9	4,7 ± 0,5 150,7	7,4 ± 0,6 161,1
	самці	7,3 ± 0,6 140,4	10,3 ± 0,9 152,2	3,3 ± 0,2 130,6	4,8 ± 0,8 145,6

$P < 0,05$ в усіх випадках стосовно контролю

В результаті проведених експериментальних досліджень було встановлено, що за фізіологічних умов існування у статевозрілих самців і самок існують досить істотні відмінності вмісту продуктів перекисного

окислення ліпідів і активності антиоксидантних ферментів в печінці і крові (табл. 3.1).

Так, вміст дієнових кон'югатів у печінці здорових щурів був нижчим від аналогічних запалень здорових самок на 24,7%, а у сироватці крові відповідно на 19,4%. Вміст малонового диальдегіду у печінці здорових щурів самців був на 20% нижчим ніж у самок цієї експериментальної групи, а в сироватці крові він був нижчим відповідно на 28,3%. Досить істотно відрізнялись і показники активності каталази і глутатіонтрансферази. Так, наприклад, активність каталази у тканинах печінки самців була нижча ніж у самок на 31,8%, а в еритроцитах крові на 20,3%. Активність глутатіонтрансферази в тканинах печінки самців була нижча за аналогічні показники самок на 23,5%, а в еритроцитах крові на 26,3%.

Таблиця 3.2

Активність каталази і глутатіонтрансферази в еритроцитах крові і печінці алкоголізованих самців і самок щурів

($M \pm m$; $n = 10$)

Умови досліджу		Печінка		Еритроцити	
		ГТ нмоль/г	Каталаза м.о/г	ГТ нмоль/г	Каталаза м.о/г
Контроль	самки	87,3 ± 3,4	35,6 ± 1,9	41,1 ± 1,1	18,3 ± 1,3
	самці	75,6 ± 2,8	24,3 ± 2,2	30,3 ± 1,5	14,6 ± 1,1
Алкоголізовані	самки	52,7 ± 2,2 60,4	19,7 ± 1,3 55,4	23,1 ± 1,6 56,3	9,8 ± 0,7 53,3
	самці	57,6 ± 2,4 76,2	24,7 ± 1,5 69,3	20,5 ± 1,2 67,7	10,0 ± 0,9 68,3

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

Проведені дослідження також дозволили встановити цілий ряд відмінностей і у показниках цитокінової ланки імунної системи. Так, наприклад, спонтанна продукція ІЛ-1 β у самок була вища за аналогічні показники інтактних самців на 16,7%, а індукована продукція на 12,9%. У

сироватці крові самців і самок ні спонтанна ні індукована продукція ІЛ-1 β не виявлялась (табл. 3.4). Дослідження субпопуляцій лімфоцитів у крові самців і самок також дозволили виявити ряд відмінностей. Так, наприклад, загальна кількість клітин усіх субпопуляцій у самок дорівнювала 1740 в 1 мм³, а самців 1450 в мм³. При цьому у самок вміст CD⁴⁺, був на 10,8% вищим ніж у самців, вміст CD⁸⁺ - на 16,7%, CD¹⁶⁺ - 23,7% і CD²⁰⁺ - на 18,7% (табл. 3.5).

Таблиця 3.3

Активність уроканінази у сироватці крові та печінці алкоголізованих самців і самок щурів
(M \pm m; n = 10 мкмоль/г, мл)

Умови досліджу		Печінка	Сироватка
Контроль	самки	68,8 \pm 3,1	0
	самці	79,3 \pm 4,0	0
Алкоголізовані	самки	48,0 \pm 2,1 70,3	5,8 \pm 0,6
	самці	67,8 \pm 2,8 85,5	2,6 \pm 0,7

P < 0,05 стосовно контролю в усіх випадках

Перерахування спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β на клітину-продуцент показало, що спонтанна продукція цього інтерлейкіну у самок була дещо вищою ніж у самців, а індукована навпаки переважала у самців. При цьому необхідно підкреслити, що виявлені відмінності в обох випадках не мали достовірного характеру (табл. 3.6).

Дослідження продукції МНПК ФНП- α показали, що спонтанна продукція цього інтерлейкіну у самок була вища ніж у самців на 17,7%, а індукована відповідно на 16,8%. У сироватці крові вміст циркулюючого ФНП- α у самок був вищим від аналогічних значень самців на 19% (табл. 3.7.). Спонтанна продукція МНПК ФНП- α у перерахуванні на клітину-продуцент у самок була дещо вищою ніж у самців. Такі зміни спостерігались

у показниках індукованої продукції МНПК ФНП- α і в обох випадках виявлені відхилення не носили достовірного характеру (табл. 3.).

Таблиця 3.4

Показники продукції ІЛ-1 β in vivo та in vitro
($M \pm m$)

Умови досліджу		ІЛ-1 β (нг/мл)		
		Продукція МНПК		
		спонтанна	індукована	у сироватці
Контроль	самки	468 \pm 29,6	3100 \pm 123,3	0
	самці	390 \pm 30,1	2700 \pm 115,4	0
Алкоголізовані	самки	717,0 \pm 43,2 153,3	4994,0 \pm 119,7 161,1	0
	самці	507 \pm 21,4 130,1	3602 \pm 130,7 133,4	0

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

В результаті проведених досліджень встановлено (табл. 3.9), що спонтанна продукція МНПК ІЛ-8 в інтактних самок була вищою за аналогічні показання самців на 16,2%. У цей же час індукована продукція МНПК ІЛ-8 була у самців нижча ніж у самок на 13,6%. У самців і самок циркулюючого ІЛ-8 у сироватці крові не було виявлено. Носила відмінності і кількість Т-лімфоцитів та окремих субпопуляцій у самців і самок. Загальна кількість Т-лімфоцитів у самок дорівнювала 1040 в мм³, а у самців – 900 в мм³. Кількість CD4⁺ у периферійній крові самок була вищою за показники самців на 10,8%, CD8⁺ - на 16,7% (табл. 3.10.). При перерахуванні спонтанної та індукованої продукції МНПК ІЛ-8 на клітину-продуцент особливих відхилень у самців в показниках не було виявлено (табл. 3.11).

Проведені дослідження також дозволили встановити, що продукція МНПК ІЛ-6 в інтактних самців і самок мала відмінності. Так, наприклад, спонтанна продукція МНПК ІЛ-6 у самок була вищою ніж у самців на 13,4%, а індукована відповідно на 14,6%. Вміст ІЛ-6 циркулюючого у крові самок

був вищим у 1,9 рази за аналогічні показники самців. Вміст В-лімфоцитів (CD20⁺) у самок був вищим за показники самців на 12,9% (табл. 3.12).

Дослідження індукованої продукції МНПК ІЛ-2 показали, що вона у самок була вищою ніж у самців на 17,7%. Паралельно з цими також встановлено, що індукована продукція МНПК ІЛ-2, у перерахуванні на клітину продуцент, була дещо вищою у самок, але виявленні відмінності не носили достовірного характеру (табл. 3.13, 3.14).

Таблиця 3.5

Показники клітинного імунітету у алкоголізованих самців і самок
(M ± m)

Умови досліджу		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD16 ⁺		CD20 ⁺	
		%	мм ³	%	мм ³	%	мм ³	%	мм ³
Контроль	самки	32,2 ± 0,8	560,0 ± 52,3	27,6 ± 0,6	480,0 ± 32,0	21,8 ± 0,5	380 ± 23,6	18,4 ± 0,7	320 ± 1743
		34,5 ± 1,3	500,0 ± 48,3	27,6 ± 0,8	400,0 ± 36,7	200,0 ± 0,9	290 ± 27,1	17,9 ± 1,1	260 ± 1450
Алкоголізовані	самки	30,0 ± 2,1	731,0 ± 69,9	27,6 ± 1,3	673,0 ± 71,0 140,3	22,7 ± 1,1	553 ± 25,1 145,6	19,7 ± 1,4	481 ± 2438 150,2
		32,3 ± 1,8	601,0 ± 120,3	27,7 ± 1,7	514,0 ± 68,0 128,6	20,5 ± 1,3	381 ± 61,1 131,3	19,5 ± 1,6	362 ± 1858 139,4

P < 0,05 стосовно контролю в усіх випадках

Під час експериментальних досліджень показників продукції МНПК ІЛ-4 було встановлено, що спонтанна продукція цього інтерлейкіну у статевозрілих інтактних самок переважала аналогічні показники у самців на 24,2%, а індукована відповідно на 32,6%. Рівень циркулюючого ІЛ-4 у сироватці крові статевозрілих інтактних самок був вищим ніж у самців на 14,9%. Вміст циркулюючого ІЛ-4 при перерахуванні на клітину продуцент у

статевозрілих інтактних самок був на 12,5% вищим за аналогічні показники статевозрілих інтактних самців.

Таблиця 3.6

Спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β у перерахуванні на клітину-
продуцент (нг)

Умови досліджу		Продукція	
		спонтанна	індукована
Контроль	самки	$2,7 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-3}$
	самці	$2,6 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-3}$
Алкоголізовані	самки	$2,9 \times 10^{-4}$	$2,1 \times 10^{-3} *$
	самці	$2,7 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-3}$

*P < 0,05 стосовно контролю

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що активність антиоксидантних ферментів і вміст продуктів перекисного окислення ліпідів – дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в крові та тканинах печінки у статевозрілих самок були достовірно вищими за аналогічні показники статевозрілих щурів. Наведені факти та співставлення їх з літературними даними [] дають нам підстави вважати, що стан системи ПОЛ-АОС у статевозрілих самок щурів знаходиться на більш високому стаціонарному рівні ніж у самців. Слід також підкреслити, що під час експериментальних досліджень було виявлено більш високу активність уроканіази у печінці щурів-самців. Звертає на себе увагу і те, що усі дослідженні параметри цитокінової ланки імунної системи були значно вищими у самок ніж у самців. Очевидно, що такі відмінності у показниках зумовлені більш високою інтенсивністю метаболічних процесів у самок та різним гормональним та імунним статусом.

Вживання алкоголю тваринами викликало різні по інтенсивності і напрямку зміни у системі ПОЛ-АОС активності органо-специфічного ферменту уроканіази та функціонального стану цитокінової ланки імунітету.

Встановлено, що тривале вживання алкоголю сприяє посиленню інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів - дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду як у печінці, так і крові, але при цьому виявлялись досить істотні відмінності у показниках самок і самців. Так, наприклад, вміст дієнових кон'югатів у печінці алкоголізованих самок зростав порівняно з контролем на 67,8%, а у сироватці крові на 50,7% паралельно з означеними змінами у печінці та сироватці крові алкоголізованих самок кількість малонового диальдегіду зростала відповідно на 79,9% і 61,1%.

Таблиця 3.7

Показники продукції ФНП- α in vivo та in vitro(M \pm m)

Умови досліджу		ФНП- α (нг/мл)		
		Продукція МНПК		У сироватці крові
		спонтанна	індукована	
Контроль	самки	115 \pm 8,6	685 \pm 24,3	37 \pm 1,8
	самці	95 \pm 4,2	570 \pm 12,5	30 \pm 1,3
Алкоголізовані	самки	184 \pm 12,3	447 \pm 31,4	70,4 \pm 2,4
		160,7	65,3	190,2
	самці	133 \pm 10,2	443 \pm 28,3	48 \pm 1,8
		140,2	77,8	160,5

P < 0,05 стосовно контролю в усіх випадках

В алкоголізованих щурів-самців вміст дієнових кон'югатів у тканинах печінки та сироватці крові також зростав відносно аналогічних показників одновікового контролю і, стосовно останнього, відповідно дорівнював 140,4 і 130,6%. Водночас у печінці та сироватці крові цих алкоголізованих щурів-самців кількість малонового диальдегіду зростала відносно показників одновікового контролю відповідно на 52,2 і 45,6%.

Співставлення отриманих результатів утворення продуктів перекисного окислення ліпідів у печінці та сироватці крові алкоголізованих самок і самців показало, що кількість дієнових кон'югатів і малонового

диальдегіду у першому випадку було значно вищим ніж у другому. При цьому необхідно підкреслити, що навіть при урахуванні того, що у самок в контролі абсолютні показники були вищими ніж у самців (табл. 3.1.).

Таблиця 3.8

Спонтанна та індукована продукція ФНП-α у перерахуванні на клітину-
продуцент (нг)

Умови досліджу		Продукція	
		спонтанна	індукована
Контроль	самки	$1,1 \times 10^{-4}$	$6,6 \times 10^{-4}$
	самці	$1,0 \times 10^{-4}$	$6,3 \times 10^{-4}$
Алкоголізовані	самки	$1,3 \times 10^{-4}$	$3,2 \times 10^{-4} *$
	самці	$1,2 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-4} *$

*P < 0,05 стосовно контролю

У зв'язку з вищенаведеним цікавими були результати дослідження активності каталази і глутатіонтрансферази, як одних із провідних ферментів, які приймають участь не тільки в утилізації продуктів обміну ацетальдегіду [

]. Внаслідок таких досліджень (табл. 3.2) встановлено, що у печінці алкоголізованих самок активність глутатіонтрансферази знижувалась, порівняно з інтактними тваринами, на 39,6%, а в еритроцитах крові – на 43,7%. Активність глутатіонтрансферази у печінці алкоголізованих самців-щурів була нижчою за рівень однієї контрольної на 23,8%, а в еритроцитах крові – на 32,3%. Активність каталази у печінці та еритроцитах крові алкоголізованих самок також знижувалась відносно аналогічних значень контролю і стосовно останнього відповідно дорівнювала 55,4 та 53,3%. Паралельно з означеними змінами у печінці та еритроцитах крові алкоголізованих щурів-самців спостерігалось зниження активності каталази стосовно значень інтактних тварин відповідно на 30,7 і 31,7%.

Аналіз отриманих результатів дослідження показав, що незважаючи на більш високі показники активності ферментів в інтактних самок після тривалого вживання алкоголю, вони практично не відрізняються від

аналогічних в алкоголізованих самців. Останнє є свідченням того, що алкоголь викликає більш глибокі зрушення активності антиоксидантних ферментів у печінці та еритроцитах самок ніж у самців.

Таблиця 3.9

Показники продукції ІЛ-8 in vivo та in vitro
(M ± m)

Умови досліджу		ФНП-α (нг/мл)		
		Продукція МНПК		У сироватці крові
		спонтанна	індукована	
Контроль	самки	310 ± 23,4	5380 ± 122,3	0
	самці	260 ± 21,6	4650 ± 131,8	0
Алкоголізовані	самки	2250 ± 139,7	5000 ± 145,6*	156 ± 12,4
	самці	1140 ± 117,3	4120 ± 175,6	75,3 ± 4,6

*P < 0,05 стосовно контролю

Підтвердженням висловленого припущення були результати дослідження активності уроканінази – органо-специфічного ферменту, характерного тільки для тканин печінки. Внаслідок таких досліджень встановлено, що активність ферменту у печінці алкоголізованих самок знижувалась порівняно з показниками інтактних тварин на 29,7% і при цьому активність ферменту виявилась у сироватці крові, дорівнюючи при цьому 5,8 мкмоль на мл. В алкоголізованих самців також було виявлено зниження активності уроканінази у печінці на 14,5% порівняно з контролем, що у свою чергу викликало появу активності ферменту у сироватці крові, яка дорівнювала 2,6 мкмоль/мл (табл. 3.3). Наведені результати досліджень показують, що виразність виявлених змін активності уроканінази була більшою у тканинах печінки та сироватці крові в алкоголізованих самок. Такі істотні зміни активності уроканінази в алкоголізованих самок є ознакою того, що у печінці самок відбуваються більш істотні деструктивні зрушення ніж у самців (табл. 3.3).

Як відомо [], зміни показників клітинного імунітету викликанні дією цитокінів – ендогенних імуномодуляторів, що індукують проліферацію клітин, імунної системи і безпосередньо приймають участь в імунній відповіді. При антигенному впливові показники синтезу та продукції цитокінів істотно змінюються. У зв'язку з вищенаведеним ми вважаємо за доцільне визначення продукції цитокінів при алкогольній хворобі печінки.

Таблиця 3.10
Кількість Т-лімфоцитів у групах порівняння
($M \pm m$)

Умови досліджу		CD4 ⁺		CD8 ⁺	
		%	мм ³	%	мм ³
Контроль	самки	32,2 ± 0,8	560 ± 52,3	27,6 ± 0,6	480 ± 32,0
	самці	34,5 ± 1,3	500 ± 48,3	27,6 ± 0,8	400 ± 36,7
Алкоголізовані	самки	30,0 ± 2,1	731 ± 69,9	27,6 ± 1,3	673 ± 71,0
	самці	32,3 ± 1,8	601 ± 120,3	27,7 ± 1,7	514 ± 68,0

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

В результаті проведених досліджень було встановлено (табл. 3.4), що спонтанна продукція МНПК ІЛ-1 β в алкоголізованих самок посилювалась порівняно з аналогічними значеннями контролю на 53,3%, а індукованої - на 61,1%. У самців, які тривалий час вживали алкоголь, також спостерігалось посилення спонтанної та індукованої продукції МНПК ІЛ-1 β , порівняно з контролем, і при цьому переважаюча останній відповідно на 30,1 та 33,4%. Слід підкреслити, що в алкоголізованих самок спонтанна та індукована продукція МНПК ІЛ-1 β була значно вищою за аналогічні показники алкоголізованих самців.

Циркулюючого ІЛ-1 β у сироватці крові алкоголізованих самок і самців не було виявлено (табл. 3.4).

Проведені дослідження також показали, що тривале вживання алкоголю негативним чином впливає на вміст різних субпопуляцій лімфоцитів та їх загальну кількість (табл. 3.5). Так, наприклад, вміст CD4⁺ у

алкоголізованих самок зростає порівняно з контролем на 30,6%, CD8⁺ - на 28,6%, CD16⁺ - на 31,3% і CD20⁺ - на 39,4%. Слід зауважити, що абсолютні показники кількості субпопуляцій лімфоцитів у алкоголізованих самок були достовірно вищими за аналогічні показники алкоголізованих самців. Дослідження спонтанної та індукованої продукції у перерахуванні на клітину-продуцент показали, що в алкоголізованих самців і самок проявляється тенденція до посилення, але виявлені відхилення не носили достовірного характеру за виключенням індукованої продукції на клітину-продуцент в алкоголізованих самок (табл. 3.6).

Таблиця 3.11

Спонтанна та індукована продукція ІЛ-8 у перерахуванні на клітину-продуцент (нг)

Умови дослідю		Продукція	
		спонтанна	індукована
Контроль	самки	0,3 x 10 ⁻³	5,2 x 10 ⁻³
	самці	0,32 x 10 ⁻³	5,5 x 10 ⁻³
Алкоголізовані	самки	1,6 x 10 ⁻³	3,6 x 10 ⁻³
	самці	1,0 x 10 ⁻³	4,3 x 10 ⁻³

P < 0,05 стосовно контролю

При дослідженні спонтанної та індукованої продукції МНПК ФНП-α було встановлено, що в алкоголізованих самок спостерігалось посилення першої по відношенню до контролю на 60,7%, в той же час відзначалось зниження другої на 34,7%. У щурів самців, які тривалий час вживали алкоголь, спостерігалось також посилення спонтанної продукції МНПК ФНП-α на 40,2% та одночасне зниження індукованої продукції ФНП-α на 22,2%. Встановлено, що вміст циркулюючого ФНП-α у сироватці крові алкоголізованих самок збільшувався стосовно інтактних тварин на 90,2%, а в алкоголізованих самців-щурів на 60,5%. Таке посилення продукції ФНП-α і збільшення його рівня у циркулюючій крові та існуючі літературні дані [] дають підстави вважати, що відбувається у печінці індукування некрозу

гепатоцитів, посилення процесів апоптозу та стимуляція диференціювання клітин моноцитарного ряду.

Таблиця 3.12

Продукція ІЛ-6 *in vivo* та *in vitro* і кількість В-лімфоцитів у
алкоголізованих самців і самок щурів
($M \pm m$)

Умови досліджу		ІЛ-6 од/мл			CD20 ⁺
		Продукція МНПК			
		спонтанна	індукована	у сироватці	мм ³
Контроль	самки	150 ± 19,3	1030 ± 87,1	4,0 ± 0,2	350 ± 16,7
	самці	130 ± 10,2	880 ± 46,0	2,1 ± 0,3	305 ± 14,9
Алкоголізовані	самки	254 ± 33,2	1118 ± 120,2	7,0 ± 0,6	437 ± 21,7
		169,3	108,6	180,3	124,8
	самці	190 ± 11,3	891 ± 81	3,5 ± 0,4	337 ± 28,2
		146,4	101,3	169,3	110,5

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

Під час проведених досліджень було також встановлено, що спонтанна та індукована продукція МНПК ФНП-α у перерахуванні на клітину-продуцент В алкоголізованих самок у першому випадку переважала контроль на 18,1%, а у другому - була нижчою на 51,2%. В алкоголізованих самців-щурів було встановлено, що спонтанна продукція МНПК ФНП-α на клітину-продуцент була вищою за контроль на 20%, тоді як індукована – знижувалась на 36,6% порівняно з контролем.

Досить цікавим були результати дослідження продукції ІЛ-8, який відомий як класичний хемоаттрактат, що приймає участь до втягуванні клітин імунної системи до місця надходження антигену []. Внаслідок таких досліджень встановлено, що в алкоголізованих самок спонтанна продукція МНПК ІЛ-8 переважала рівень інтактних самок у 7,3 рази, а індукована продукція знижувалась, але виявлені відмінності не носили достовірного характеру. В алкоголізованих самців спонтанна продукція

МНПК ІЛ-8 також посилювалась і при цьому переважала показники контролю у 4,4 рази, а індукована продукція МНПК ІЛ-8, навпаки, знижувалась і стосовно до інтактних тварин дорівнювала 88,6%.

Таблиця 3.13

Індукована продукція ІЛ-2 МНПК і кількість клітин-продуцентів у
алкоголізованих самців і самок
($M \pm m$)

Умови досліджу		Індукована продукція ІЛ-2 (од/мл)	Т-лімфоцити (мм^3)
Контроль	самки	$17,0 \pm 1,8$	1040
	самці	$14,0 \pm 1,3$	900
Алкохолізовані	самки	$11,0 \pm 0,9$ 65,6	1404
	самці	$10,0 \pm 0,7$ 75,8	1115

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

При цьому необхідно зазначити, що і у самців і самок спостерігалось збільшення кількості клітин-продуцентів (CD4^+ і CD8^+) (табл. 3.8, 3.9). Встановлено також, що спонтанна продукція ІЛ-8 у перерахуванні на клітину-продуцент в алкоголізованих самок у 5,3 рази була вищою за аналогічні значення контролю і, навпаки, індукована знижувалась стосовно останнього на 30,8%. В алкоголізованих самців спонтанна продукція МНПК ІЛ-8 у перерахуванні на клітину-продуцент зростала у 3,1 рази, порівняно з контролем, і, навпаки, індукована продукція знижувалась відносно останнього на 21,9%. Необхідно зазначити, що при дослідженні рівня цитокіну у сироватці крові встановлено його досить істотне підвищення і особливо це стосується показників сироватки крові самок. У зв'язку зі значним підвищенням рівня ІЛ-8 у сироватці крові можна спробувати дати пояснення відсутності відповіді на антиген в алкоголізованих тварин наявністю механізму зворотнього зв'язку, який у них не появляється: як

відомо [], ІЛ-8, що циркулює у крові, зв'язується зі своїм рецептором, внаслідок чого блокується проведення сигналу.

Таблиця 3.14.

Показники продукції ІЛ-2 у перерахуванні на клітину-продуцент у алкоголізованих самців і самок щурів (нг)

Умови досліджу		Продукція ІЛ-2
Контроль	самки	$16,3 \times 10^{-6}$
	самці	$15,5 \times 10^{-6}$
Алкоголізовані	самки	$7,8 \times 10^{-6}$
	самці	$9,5 \times 10^{-6}$

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

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

На сьогодні добре відомо [], що ІЛ-6 відіграє роль у формуванні різного виду соматичної патології. Окрім цього ІЛ-6 бере безпосередню участь у переведенні активування В-лімфоцитів до Іg-продукуючих клітин. З іншого боку, одні дослідники вважають цитокін ІЛ-6 прозапальним фактором [], інші - протизапальним []. У зв'язку з викладеним представлялось необхідним дослідити особливості продукції цього цитокіну в алкоголізованих самок і самців. Внаслідок проведених досліджень встановлено, що спонтанна продукція МНПК ІЛ-6 у самок з алкогольною хворобою печінки, різко зростала стосовно аналогічних значень в інтактних тварин, перевершуючи їх відповідно на 69,3%. Дещо меншим було посилення спонтанної продукції МНПК ІЛ-6 у самців-щурів, але і у даному випадку вона перевершувала контроль на 46,4%. Індукована продукція цитокіна ІЛ-6 у відповідь на антиген у алкоголізованих самок і самців в абсолютних числах майже не відрізнялась від аналогічної в інтактних тварин, незважаючи на те, що відповідь клітин на індуктор був зниженим. Зниження

відповіді на індуктор (антиген) в алкоголізованих тварин може бути зв'язано з циркуляцією у крові ІЛ-6, що визначає рефрактерність клітин у відповідь на антигенний стимул.

Таблиця 3.15.

Продукція ІЛ-4 *in vivo* та *in vitro* і кількість В-лімфоцитів у
алкоголізованих самців і самок щурів
($M \pm m$; $n = 10$)

Умови досліджу		ІЛ-4 нг/мл			CD20 ⁺
		Продукція МНПК			
		спонтанна	індукована	у сироватці	мм ³
Контроль	самки	33,0 ± 2,1	46,0 ± 2,4	27,0 ± 1,2	320 ± 26,7
	самці	25,0 ± 1,4	31,0 ± 1,9	23,0 ± 1,3	260 ± 30,0
Алкоголізовані	самки	66,0 ± 2,2	96,0 ± 3,3	53,0 ± 2,3	481 ± 28,6
		198,6	206,3	195,7	124,8
	самці	46,0 ± 1,9	60,0 ± 2,8	43,0 ± 1,9	362 ± 40,2
		183,2	191,6	182,3	

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

Не менш цікавими були результати досліджень індукованої продукції МНПК ІЛ-2 для з'ясування стану Т-клітинного ростового фактору в алкоголізованих тварин. Внаслідок таких досліджень (табл. 3.13.) було встановлено, що індукована продукція МНПК ІЛ-2 в алкоголізованих тварин знижувалась і стосовно до контролю дорівнювала у самок 65,6%, а у самців 75,8%. В результаті перерахування показників індукованої продукції на клітину-продуцент було виявлено, що у алкоголізованих самців і самок вона різко знижувалась. 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 *in vivo* та *in vitro* (табл. 3.15.). Внаслідок таких досліджень встановлено, що у алкоголізованих самок спонтанна продукція МНПК була вища ніж в інтактних тварин на 98,6%, а індукована – на 106,3%.

У самців, які тривалий час вживали алкоголь, спонтанна продукція МНПК ІЛ-4 переважала рівень контролю на 83,2%, а індукованої – на 91,6%. Рівень циркулюючого ІЛ-4 у сироватці крові алкоголізованих самок стосовно контролю дорівнювала 195,7%, а у самців – 182,3%. Враховуючи, що клітинами мішенями для ІЛ-4 являються В-лімфоцити, які і при участі ІЛ-4 розпочинають диференціюватись у плазматичні клітини, було доцільним визначити як відрізняється у самок і самців кількість циркулюючого ІЛ-4 у перерахуванні на одну клітину-мішень.

Таблиця 3.16.

Показники продукції ІЛ-2 у перерахуванні на клітину-продуцент у алкоголізованих самців і самок щурів (нг)

Умови досліджу		Продукція ІЛ-2
Контроль	самки	$0,8 \times 10^{-4}$
	самці	$0,9 \times 10^{-4}$
Алкоголізовані	самки	$1,1 \times 10^{-4} *$
	самці	$1,2 \times 10^{-4} *$

* $P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

Як відомо з наведених результатів дослідження (табл. 3.16.) на кожний В-лімфоцит інтактних самок викликає активний вплив $0,8 \times 10^{-4}$ пг ІЛ-4, в інтактних самців $0,9 \times 10^{-4}$ пг ІЛ-4. В алкоголізованих самок на кожний В-лімфоцит активно впливає $1,1 \times 10^{-4}$ пг ІЛ-4, а в алкоголізованих самців – $1,2 \times 10^{-4}$ ІЛ-4. Отримані дані підтверджують переключення с Тх1 – на Тх2 – відповідь як в алкоголізованих самок, так і самців.

3.2. Особливості продукції цитокінів та стан редокс-системи в осіб з алкогольною хворобою печінки.

Цілий ряд досліджень [] свідчить, що феномен переваги вживання етанолу тваринами і схильність до вживання алкоголю у людей можуть бути зв'язаними з інтенсивністю його обміну в організмі і ферментні системи метаболізму етанолу відіграють не останню роль у механізмах тяги до

алкоголю. Існують припущення [], що механізм такої тяги зв'язаний з локальним рівнем ацетальдегіду у мозку, що утворюються при вживанні алкоголю і який залежить від активності систем метаболізму етанолу і ацетальдегіду та стану систем неспецифічної резистентності організму. У зв'язку з цим представляється актуальним дослідження процесів адаптації окислюючих продукти метаболізму алкоголю - каталази, глутатіонтрансферази, з'ясування функціонального стану органо-специфічного ферменту уроканінази та цитокінової ланки імунітету.

В результаті проведених досліджень (табл. 3.17.) встановлено, що вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові осіб, які на протязі 10 років вживали алкоголь, досить істотно відрізнявся від аналогічних значень у здорових донорів, а також були виявлені чуттєві відмінності у різних за статтю людей. Так, наприклад, у сироватці жінок, які вживали спиртні напої 10 років і більше, вміст дієнових кон'югатів був вищим за аналогічні показники контролю на 60,7%. У цей же час вміст малонового диальдегіду у сироватці крові жінок цієї групи переважав рівень контролю на 75,6%. У сироватці крові чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь, вміст дієнових кон'югатів був вищим за аналогічні показники донорів на 40,2%. Паралельно з означеними змінами вмісту дієнових кон'югатів у сироватці крові цих чоловіків спостерігалось збільшення кількості малонового диальдегіду, який переважав аналогічні значення у сироватці крові донорів на 61,7%. Виходячи з викладеного, досить цікавим були результати дослідження активності антиоксидантних ферментів в еритроцитах крові людей з алкогольною хворобою печінки. В результаті таких досліджень встановлено, що в еритроцитах крові жінок, які 10 років вживали алкоголь, активність каталази відносно контролю достовірно знижувалась і стосовно останнього дорівнювала 60,3%. Також встановлено, що в еритроцитах крові цих жінок спостерігалось зниження активності глутатіонтрансферази порівняно з контролем на 48,2%. У чоловіків з алкогольною хворобою печінки в еритроцитах крові активність каталази стосовно контролю дорівнювала

75,9%. У цій групі хворих чоловіків також було встановлено, що активність глутатіонтрансферази була нижчою за аналогічні значення здорових донорів на 22,6%.

Таблиця 3.17.

Вміст дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду та активність глутатіонтрансферази і каталази, осіб, які тривалий час вживали алкоголь
($M \pm m$; $n = 10$)

Групи обстежених		Вміст продуктів ПОЛ у сироватці крові		Активність ферментів в еритроцитах	
		ДК нмоль/мл	МДА нмоль/мл	Каталаза м.о./мл	Глутатіонтрансфераза нмоль/мл
Донори	жінки	3,4 ± 0,8	4,6 ± 0,5	2,3 ± 1,6	89,4 ± 4,3
	чоловіки	2,6 ± 0,7	3,3 ± 0,9	19,3 ± 1,1	73,3 ± 5,4
Хворі	жінки	5,5 ± 0,8 160,7	8,1 ± 0,7 175,6	15,2 ± 1,3 60,3	45,8 ± 3,2 51,2
	чоловіки	3,6 ± 0,6 140,2	5,3 ± 0,8 161,7	14,6 ± 1,2 75,9	56,7 ± 2,9 77,7

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

Дослідження активності уроканінази у сироватці крові жінок з алкогольною хворобою печінки показали, що вона дорівнювала $10,3 \pm 0,9$ мкмоль на мл, що було ознакою деструктивних змін гепатоцитів, так як з фізіологічних умов активність цього ферменту визначається [] тільки у тканинах печінки і у сироватці крові вона виявляється при зрушенні структури біологічної мембрани гепатоцитів. У чоловіків з алкогольною хворобою печінки у сироватці крові також була виявлена активність уроканінази, яка дорівнювала $4,7$ мкмоль на мл. Отже, виявлені відмінності у показниках активності уроканінази є свідченням того, що у печінці жінок відбувались більш глибокі зміни ніж у чоловіків.

Цікавим з цих позицій були і результати дослідження функціонального стану цитокінової ланки імунної системи у жінок та чоловіків, які вживали на

протязі 10 років алкогольні напої. Внаслідок таких досліджень встановлено, що продукція МНПК цитокіну ІЛ-1 β підлягала досить істотним змінам як по відношенню до контролю, так і мала статеві відмінності (табл. 3.19.). Внаслідок таких досліджень встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-1 β у жінок на 65,6% була вищою за показники здорових донорів і одночасно переважала значення у чоловіків з алкогольною хворобою печінки на 23,4%. Індукована продукція МНПК цитокіну ІЛ-1 β у жінок з алкогольною хворобою печінки достовірно була вищою за показники чоловіків і водночас на 76,7% переважала рівень контролю. Циркулюючого цитокіну ІЛ-1 β у сироватці жінок, які понад 10 років вживали алкоголь, не було виявлено. У чоловіків з алкогольною хворобою печінки встановлено, що спонтанна продукція МНПК цитокіну була вищою за контроль на 44,3%, а індукована - на 51,1%. І у даному випадку у сироватці крові чоловіків з алкогольною хворобою печінки цитокін ІЛ-1 β не виявлявся.

Таблиця 3.18.

Активність уроканінази у сироватці крові осіб, які тривалий час вживали алкоголь

Групи обстежених		Активність уроканінази мкмоль/мл
Донори	жінки	0
	чоловіки	0
Хворі	жінки	10,3 \pm 0,9
	чоловіки	4,7 \pm 0,5

P<0,05 стосовно контролю в усіх випадках

Показовими також були і дослідження субпопуляційного складу лімфоцитів у чоловіків та жінок, які вживали алкогольні напої у надмірних кількостях на протязі 10 і більше років. Внаслідок таких досліджень (табл. 3.20.) встановлено, що у жінок, які тривалий час зловживали алкогольними напоями, вміст CD4⁺ - на 53,3%, CD16⁺ - на 52,2% і CD20⁺ - на 55,3% був вищим за контроль. У чоловіків, які вживали понад 10 років алкогольні напої у загрозливих дозах, були виявлені також досить істотні відмінності у

субпопуляційному складі лімфоцитів. Так, вміст CD4⁺ переважав рівень донорів на 29,8%, CD8⁺ - на 37,7%, CD16⁺ - на 38,4% і CD20⁺ - на 42,2%. При цьому необхідно підкреслити, що кількість клітин в усіх субпопуляціях чоловіків була достовірно нижчою ніж у жінок (табл. 3.20.).

Таблиця 3.19.

Значення показників продукції ІЛ-1β МНПК у осіб, які тривалий час вживали алкоголь

Групи обстежених		ІЛ-1β		
		Продукція МНПК		У сироватці крові
		спонтанна	індукована	
Донори	жінки	560 ± 20,3	3100 ± 36	0
	чоловіки	493 ± 19,5	2910 ± 48	0
Хворі	жінки	927 ± 89,3	5478 ± 125,3	0
	чоловіки	711 ± 64,3	4397 ± 113,4	0

*P < 0,05 стосовно контролю в усіх випадках

У зв'язку з тим, що клітинами-продуцентами цитокіну ІЛ-1β являється CD4⁺ і CD8⁺ нами були проведені розрахунки показників продукції цього інтерлейкіну на клітину-продуцент. В результаті таких розрахунків встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-1β у перерахуванні на клітину-продуцент жінок, які тривалий час вживали надмірні кількості алкоголю, перевершувала аналогічні значення жінок-донорів на 12,8%. Паралельно з цим у жінок, які вживали щоденно алкоголь на протязі 10 років, спостерігалось також і посилення індукованої продукції цитокіну ІЛ-1β стосовно аналогічних значень контролю і відповідно до останнього вона дорівнювала 123,1%. У чоловіків, які вживали щоденно алкоголь у загрозливих дозах на протязі більше 10 років, спонтанна продукція цитокіну ІЛ-1β у перерахуванні на клітину-продуцент достовірно переважала аналогічні значення чоловіків донорів і стосовно останніх дорівнювала 110,3%. Що стосується індукованої продукції ІЛ-1β у перерахуванні на клітину-продуцент у чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь, то вона

переважала рівень контролю на 11,5%. Звертає на себе увагу і той факт, що спонтанна продукція ІЛ-1 β у перерахуванні на клітину-продуцент була вищою у жінок ніж у чоловіків (табл. 3.21.). Отримані результати досліджень ІЛ-1 β у сироватці крові осіб усіх груп обстежених свідчать про те, що активація МНПК не приводить до збільшення циркулюючого ІЛ-1 β у сироватці крові. Відсутність кількості ІЛ-1 β , що виявляється у сироватці периферійній крові у обстежених чоловіків і жінок, зловживаючих алкогольні напої, можна пояснити наявністю розчинних форм рецептору ІЛ-1 β і/або наявністю антитіл до ІЛ-1 β . Іншим поясненням цього явища може бути продукція МНПК рецепторного антагоніста ІЛ-1 (РАІЛ), який конкуруючи з ІЛ-1 β за зв'язування з рецептором ІЛ-1 І типу, інгібує аутокринну регуляцію МНПК, продукуємим ІЛ-1 β .

Таблиця 3.21.

Показники продукції ІЛ-1 β у перерахуванні на клітину-продуцент (нг)

Групи обстежених		Продукція ІЛ-1 β	
		спонтанна	індукована
Донори	жінки	$4,7 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-3}$
	чоловіки	$4,4 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-3}$
Хворі	жінки	$5,3 \times 10^{-4}$	$3,2 \times 10^{-3}$
	чоловіки	$4,7 \times 10^{-4}$	$2,9 \times 10^{-3}$

Наведені результати досліджень з нашої точки зору підтверджують провідну роль ІЛ-1 β у формуванні алкогольної хвороби печінки у жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкогольні напої у надмірних кількостях на протязі 10 років.

У зв'язку з тим, що в літературі [] описана важлива роль ФНП- α у розвитку оксидативного стресу та апоптозу у клітинах ендотелію нами проведені дослідження спонтанної та індукованої продукції МНПК ФНП- α периферійній крові і вміст цитокіну у сироватці крові пацієнтів порівняних груп. Як видно з наведених результатів дослідження (табл. 3.22.) спонтанна та індукована продукція МНПК ФНП- α у жінок та чоловіків, які протягом 10

років щоденно вживали алкоголь в надмірних кількостях, підлягає досить істотним змінам. Так, у жінок з алкогольною хворобою печінки спонтанна продукція МНПК ФНП- α була вищою за аналогічні показники здорових донорів і переважала їх на 70,8%. Під час цих досліджень також встановлено, що індукована продукція ФНП- α МНПК у жінок з алкогольною хворобою печінки навпаки знижувалась стосовно аналогічних значень жінок-донорів і відносно останніх дорівнювала 55,3%. При обстеженні чоловіків з алкогольною хворобою печінки спонтанна продукція ФНП- α МНПК посилювалась відносно аналогічних значень донорів і при цьому переважала їх на 50,4%. Індукована продукція ФНП- α МНПК у чоловіків з алкогольною хворобою печінки знижувалась і при цьому стосовно донорів дорівнювала 71,4%. Зниження можливості клітин продукувати ФНП- α у відповідь на антигенний стимул вагомо доводиться при вивченні співвідношення індукованої продукції ФНП- α МНПК до спонтанної, тобто з'ясування індексу стимуляції. Внаслідок таких розрахунків встановлено, що індекс стимуляції ФНП- α у здорових жінок і чоловіків відповідно дорівнював 5,9 і 6,6, у жінок і чоловіків з алкогольною хворобою печінки відповідно 1,9 і 3,1.

Таблиця 3.22.

Показники продукції ФНП- α у осіб, які тривалий час вживали алкоголь
($M \pm m$; $n = 10$)

Групи обстежених		ІЛ-1 β		
		Продукція МНПК		У сироватці крові
		спонтанна	індукована	
Донори	жінки	115 \pm 9,5	680 \pm 28	40 \pm 1,9
	чоловіки	100 \pm 6,3	660 \pm 25	30 \pm 1,7
Хворі	жінки	196 \pm 12,5*	376 \pm 19,1*	78 \pm 3,4
		170,8	55,3	195,6
	чоловіки	150 \pm 13,4*	471 \pm 21,3*	50 \pm 2,6*
		150,4	7141	167,7

* $P < 0,05$ стосовно контролю

Таким чином, порушення продукції ФНП- α у відповідь на антигенну стимуляцію було найбільш виразним у групі жінок з алкогольною хворобою печінки. Виявлені особливості можуть бути зв'язаними з тривалою гіперпродукцією ФНП- α МНПК, наступним порушенням аутокринної регуляції цитокіну і рефрактерністю клітин-продуцентів до антигенного стимулу.

Таблиця 3.23.

Показники спонтанної та індукованої продукції ФНП- α у перерахуванні на клітину-продуцент осіб, які тривалий час вживали алкоголь (нг)

Групи обстежених		Продукція ФНП- α	
		спонтанна	індукована
Донори	жінки	$0,9 \times 10^{-4}$	$5,7 \times 10^{-4}$
	чоловіки	$0,8 \times 10^{-4}$	$5,9 \times 10^{-4}$
Хворі	жінки	$1,1 \times 10^{-4}$	$2,1 \times 10^{-4}$
	чоловіки	$1,0 \times 10^{-4}$	$3,2 \times 10^{-4}$

$P < 0,05$ стосовно контролю

Ураховуючи, що лімфоцитами продуцентами ФНП- α являються CD4⁺ і CD8⁺ і NK-клітини, представляється цікавим порівняти рівень спонтанної та індукованої у перерахуванні на клітину-продуцент, так як вивчення продукції цитокіну *in vitro* проводиться у супернатантах при культивуванні цільної крові. Сума клітин-продуцентів у здорових жінок і чоловіків дорівнювала відповідно 1185 і 1120, у жінок і чоловіків з алкогольною хворобою печінки – 1738 і 1495.

Внаслідок проведених обчислень встановлено, що спонтанна продукція ФНП- α у перерахуванні на клітину-продуцент у жінок з алкогольною хворобою печінки переважала контроль на 22,2%, а індукована продукція при цьому знижувалась на 63,2%. У чоловіків з алкогольною хворобою печінки спонтанна продукція у перерахуванні на клітину-продуцент була вищою за рівень контролю на 25%, а індукована нижча – на 45,8% (табл. 3.23.).

Таблиця 3.24.

Показники продукції ІЛ-8 у осіб, які тривалий час вживали алкоголь
($M \pm m$; $n = 30$)

Групи обстежених		ІЛ-8 (нг/мл)		
		Продукція МНПК		У сироватці крові
		спонтанна	індукована	
Донори	жінки	320 ± 21	5470 ± 121,5	0
	чоловіки	295 ± 17	4780 ± 119,6	0
Хворі	жінки	2361 ± 165,1*	4830 ± 135,6* 88,3	172 ± 11,3*
	чоловіки	1327 ± 133,2*	4030 ± 115,1* 84,3	86,7 ± 5,3*

* $P < 0,05$ стосовно контролю

Наступним етапом було дослідження показників продукції ІЛ-8, відомого хемоаттрактанта, що приймає участь до протягування клітин імунної системи до місця надходження антигену. Як видно з наведених даних (табл. 3.24.) спонтанна продукція ІЛ-8 у жінок з алкогольною хворобою посилювалась порівняно з аналогічними показниками донорів у 7,4 рази, а у чоловіків у 4,5 рази. Дослідження індукованої продукції ІЛ-8 МНПК показали, що у жінок з алкогольною хворобою печінки вона була нижчою за контроль на 11,7%, а у чоловіків на 15,7%.

Так як дослідження ІЛ-8 проводилось з використанням цільної крові представляється доцільним визначити чи є зміни продукції ІЛ-8 *in vitro* пов'язаними з функціональними особливостями досліджуваних клітин або з їх кількісними змінами порівняно з донорами. При перерахуванні спонтанної продукції ІЛ-8 на клітину-продуцент встановлено, що у жінок з алкогольною хворобою печінки була нижча ніж у донорів на 51,9% і у чоловіків – на 66,7%. Індукована продукція ІЛ-8 у перерахуванні на клітину-продуцент у жінок з алкогольною хворобою печінки виявлялась нижчою за показники

донорів на 39,2%, а у чоловіків на 37,3% (табл. 3.25.). При дослідженні рівня цитокіну у сироватці крові (табл. 3.24.) було виявлено достовірне його підвищення ІЛ-8 у жінок і чоловіків порівняно з донорами. При цьому рівень циркулюючого у периферійній крові ІЛ-8, що стимулює хемоаттракцію і проліферацію гладком'язевих клітин судинної стінки був найбільш високим у жінок. У зв'язку зі значним підвищенням рівня ІЛ-8 у сироватці крові жінок з алкогольною хворобою печінки можна сформулювати пояснення відсутності відповіді на антиген у цих хворих наявністю зворотнього зв'язку, який виявляється у цих пацієнтів: ІЛ-8, що циркулює в крові, зв'язується зі своїм рецептором, внаслідок чого блокується проведення сигналу.

Таблиця 3.25.

Показники спонтанної та індукованої продукції ІЛ-8 у перерахуванні на клітину-продуцент осіб, які тривалий час вживали алкоголь (нг)

Групи обстежених		Продукція ІЛ-8	
		спонтанна	індукована
Донори	жінки	$2,7 \times 10^{-4}$	$4,6 \times 10^{-3}$
	чоловіки	$2,6 \times 10^{-4}$	$4,3 \times 10^{-3}$
Хворі	жінки	$1,3 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-3}$
	чоловіки	$0,9 \times 10^{-4}$	$2,7 \times 10^{-3}$

$P < 0,05$ стосовно контролю

В результаті проведених досліджень продукції ІЛ-6 було встановлено, що в осіб, які тривалий час вживали алкоголь, вона підлягала досить істотним змінам (табл. 3.26.). Так, спонтанна продукція ІЛ-6 МНПК у жінок, які тривалий час вживали алкоголь, переважала показники контролю на 80,4%, а у чоловіків на 57,7%. Індукована продукція цитокіну ІЛ-6 МНПК у відповідь на антиген у жінок і чоловіків з алкогольною хворобою печінки практично не відрізнялась від аналогічних показників донорів, хоча відповідь клітин на індуктор була різко зниженою. Коефіцієнт співвідношення індукованої продукції до спонтанної у жінок і чоловіків донорів дорівнював

відповідно 6,5 і 6,4; у жінок і чоловіків, які тривалий час вживали алкоголь дорівнював відповідно – 3,8 і 4,0.

Таблиця 3.26.

Показники продукції ІЛ-6 у осіб, які тривалий час вживали алкоголь
($M \pm m$; $n = 30$)

Групи обстежених		ІЛ-6 (нг/мл)		
		Продукція МНПК		У сироватці крові
		спонтанна	індукована	
Донори	жінки	165 ± 20,4	1070 ± 95,3	400 ± 19,8
	чоловіки	141 ± 17,4	908 ± 63,0	355 ± 21,1
Хворі	жінки	298 ± 16,3*	1130 ± 57,7*	781 ± 36,7*
		180,4	105,6	195,3
	чоловіки	222 ± 18,6*	898 ± 46,7*	604 ± 40,3*
		157,7	98,9	170,2

* $P < 0,05$ стосовно контролю

Дослідження циркулюючого у периферійній крові цитокіну ІЛ-6 показала, що його кількість у жінок з алкогольною хворобою печінки була вища за показники донорів на 95,3%, а у чоловіків – на 70,2%. Таке підвищення вмісту циркулюючого у периферійній крові ІЛ-6 може визначати рефрактерність клітин у відповідь на антигенний стимул. Високий рівень ІЛ-6 у сироватці крові жінок і чоловіків з алкогольною патологією печінки свідчить про безпосередній вплив циркулюючого цитокіну на клітини-мішені. Максимальний рівень ІЛ-6 був виявлений у жінок з алкогольною хворобою печінки.

Не менш цікавими були результати дослідження продукції ІЛ-2 у жінок і чоловіків з алкогольною хворобою печінки, які в певній мірі дозволили визначити чи відбуваються зміни в Т-клітинній ланці імунітету за умов хронічного вживання алкоголю. У зв'язку з тим, що основними клітинами-

продуцентами ІЛ-2 є Т-лімфоцити, то представлялось доцільним вивчити індуковану продукцію ІЛ-2 та спів ставити з кількістю Т-лімфоцитів.

Дослідження продукції ІЛ-2 у супернатантах периферійній крові виявило зниження функціональної здібності Т-лімфоцитів у жінок та чоловіків з алкогольною хворобою печінки продукувати Т-клітинний ростовий фактор ІЛ-2, причому максимальне зниження було виявлено у жінок.

Наприклад, індукована продукція ІЛ-2 МНПК у жінок, які щоденно на протязі більше 10 років вживали алкоголь у надмірних дозах, була нижчою за аналогічні значення донорів на 48,6%. У чоловіків, які вживали алкоголь у надмірних кількостях на протязі 10 років, індукована продукція ІЛ-2 МНПК знижувалась відносно аналогічних значень у донорів і стосовно останніх дорівнювала 66,7% (табл. 3.27.).

Таблиця 3.27.

Показники продукції ІЛ-2 у осіб, які тривалий час вживали алкоголь

($M \pm m$; $n =$)

Групи обстежених		Індукована продукція МНПК ІЛ-2 (од/мл)
Донори	жінки	21,0 ± 1,9
	чоловіки	17,0 ± 1,2
Хворі	жінки	11,0 ± 0,9 51,4
	чоловіки	12,0 ± 1,1 66,7

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

У зв'язку з тим, що зниження продукції ІЛ-2 зв'язано з кількісним складом клітин, що продукують цитокін, то була досліджена продукція ІЛ-2 у перерахуванні на клітину-продуцент. ІЛ-2 визначалась біологічним методом, при чому одна біологічна одиниця дорівнювала 1 пг (табл. 3.28.).

Як видно з наведених у таблиці 3.28. результатів досліджень, продукція ІЛ-2 у перерахуванні на клітину-продуцент у жінок з алкогольною хворобою печінки була нижчою за аналогічні показники контролю на 64,5%. У чоловіків з алкогольною хворобою печінки продукція ІЛ-2 у перерахуванні на клітину-продуцент була нижчою від аналогічних значень донорів на 47,1%.

Таблиця 3.28.

Показники продукції ІЛ-2 у перерахуванні на клітину-продуцент (пг)

($M \pm m$; n =)

Групи обстежених		Продукція ІЛ-2
Донори	жінки	$17,7 \times 10^{-6}$
	чоловіки	$15,1 \times 10^{-6}$
Хворі	жінки	$6,3 \times 10^{-6}$
	чоловіки	$8,0 \times 10^{-6}$

Аналіз отриманих результатів на співставлення їх з існуючими літературними даними [] дозволяє нам зробити припущення, що їх поясненням може бути не Т-клітинний дефіцит у жінок та чоловіків з алкогольною хворобою печінки, а, очевидно, переключення з Тх1 – на Тх2-відповідь, яке спостерігалось у цих пацієнтів.

Зазначенні вище результати наших досліджень та аналіз існуючої літератури [] показали необхідність вивчення продукції ІЛ-4 *in vitro* і *in vivo* у здорових донорів та жінок і чоловіків хворих на алкогольну хворобу печінки. Внаслідок таких досліджень встановлено (табл. 3.29., 3.30.), що спонтанна продукція ІЛ-4 МНПК у жінок з алкогольною хворобою печінки зростала на 100% порівняно з аналогічними значеннями у донорів. У чоловіків хворих на алкогольну хворобу печінки спонтанна продукція ІЛ-4 МНПК також посилювалась порівняно з аналогічними показниками донорів і перевершувала останній на 89,7%. Індукована продукція ІЛ-4 МНПК у жінок з алкогольною хворобою печінки виявлялась вищою від аналогічних значень

у донорів на 115,8%. У чоловіків з алкогольною хворобою печінки індукована продукція ІЛ-4 МНПК також посилювалась відносно показників контролю, перевершуючи останній на 100%.

Таблиця 3.29.

Показники продукції ІЛ-4 у осіб, які тривалий час вживали алкоголь
($M \pm m$; $n = 30$)

Групи обстежених		ІЛ-6 (нг/мл)		
		Продукція МНПК		У сироватці крові
		спонтанна	індукована	
Донори	жінки	20,0 ± 1,3	35,0 ± 2,1	30,0 ± 1,8
	чоловіки	11,0 ± 0,7	19,0 ± 1,3	20 ± 1,1
Хворі	жінки	40,0 ± 2,2*	76,0 ± 3,1*	61,0 ± 2,5*
		200,0	215,8	203,4
	чоловіки	21,0 ± 1,2*	70,0 ± 2,8*	39,0 ± 1,6*
		189,7	200,0	197,2

$P < 0,05$ стосовно контролю

Дослідження продукції цитокіну *in vivo* виявило максимальний рівень циркулюючого ІЛ-4 у жінок з алкогольною хворобою печінки, який переважав показники донорів на 103,4%. У чоловіків з алкогольною хворобою печінки було виявлено, що рівень циркулюючого ІЛ-4 у периферійній крові був вищим за аналогічні значення донорів на 97,2%. Ураховуючи той факт [], що клітинами-мішенями для ІЛ-4 є В-лімфоцити, які за допомогою цього цитокіну розпочинають диференціюватись до плазматичних клітин, то на наш погляд доцільним було визначення як відрізняється у жінок та чоловіків з алкогольною хворобою печінки від групи донорів кількість циркулюючого ІЛ-4 у перерахуванні на одну клітину мішень (В-лімфоцит). Як свідчать наведені результати досліджень (табл. 3.30.), рівень циркулюючого ІЛ-4 у перерахуванні на клітину-мішень у жінок з алкогольною хворобою печінки переважав аналогічні значення контролю на 50%. У чоловіків, які щоденно на протязі 10 років вживали у надмірних

кількостях алкогольні напої, рівень циркулюючого ІЛ-4 у перерахуванні на клітину-мішень був також вищим за показники донорів на 40%.

Таблиця 3.30.

Показники продукції ІЛ-4 у перерахуванні на клітину-продуцент (пг)

Групи обстежених		Продукція ІЛ-4
Донори	жінки	$0,6 \times 10^{-4}$
	чоловіки	$0,5 \times 10^{-4}$
Хворі	жінки	$0,9 \times 10^{-4} *$
	чоловіки	$0,7 \times 10^{-4} *$

* $P < 0,05$ стосовно контролю

Таким чином, враховуючи роль ІЛ-4 в індукції продукції 12-лінооксигенази – ферменту, що сприяє процесам міграції та проліферації, участі у процесах індукції молекули адгезії VCAM, більш високий рівень у групі жінок з алкогольною хворобою печінки, очевидно, віддзеркалює швидкість формування патологічних зрушень у печінці.

Узагальнення до розділу 3.

У даному розділі висвітлені результати дослідження стану редокс-системи та цитокінової ланки імунної системи у паренхімі печінки статевозрілих щурів самок і самців, які тривалий час вживали алкоголь. Внаслідок таких досліджень встановлено, що у алкоголізованих тварин у тканинах печінки та сироватці крові спостерігалось збільшення вмісту дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду і, навпаки, активність каталази і глутатіонтрансферази знижувалась. Паралельно з цим спостерігалось зниження активності урканіази 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 по характеру були виявлені зміни досліджених процесів і в крові жінок та чоловіків, які понад 10 років вживали алкогольні напої.

На підставі проведених досліджень зроблено висновок, що продукція метаболізму алкоголю посилюють вільно-радикальні процеси і, зокрема, ПОЛ на тлі низької активності антиоксидантних ферментів. Надмірні кількості продуктів ПОЛ викликають модифікацію продукції досліджених цитокінів внаслідок чого посилюються процеси запалення, міграції і проліферації та розвитку фіброзу.

Результати цих досліджень опубліковані в роботах

:РОЗДІЛ 4
ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЦИТОКІНОВОЇ
ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ І РЕДОКС-СИСТЕМИ ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД
АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ПОПЕРЕДНИКІВ

Одним з важливих підсумків досліджень геному людини є поява та швидкий розвиток якісно нового стану медичної науки – передбачуваної медицини, основу якої, як відомо [], складають ідентифікація головних генів і генів-модифікаторів у генній сітці для любого мультифакторного захворювання і пошук асоціації поліморфізмів таких генів з цим захворюванням, що дозволить розробити комплекс профілактичних заходів для конкретного індивідууму. Алкоголізм і інші хвороби, залежності від психоактивних сполук, краще всього відповідають поняттю мультифакторні захворювання, при яких допускається існування спадкоємної схильності [.....].

У медико-біологічних проблемах алкоголізму дослідники розрізняють його припущення і наслідки з генетичної точки зору, припущення – це контроль метаболізму етанолу в організмі людини, тобто наявність спадкоємних факторів, допускаючих виникнення алкоголізму як хвороби, а наслідки – безпосередня пошкоджуюча дія алкоголю на організм у цілому [.....]. Слід зауважити, що хронічна алкогольна інтоксикація також викликає розвиток комплексу аутоалергічних реакцій, що супроводжуються посиленою продукцією антитіл до антигенів головного мозку, печінки, серця та інших вісцеральних органів []. У цілому імунну відповідь можна вважати фізіологічною реакцією направленою на підтримку генетичної сталості внутрішнього середовища організму, або генетичного гомеостазу. Останнім часом серед медіаторів імунітету найбільш інтенсивно вивчались цитокіни, що являють собою групу полінетизних факторів, які приймають участь в регуляції запалення та імунної відповіді. Основними функціями цитокінів вважають є регуляція закладки і розвиток органів імунної системи в ембріогенезі, регуляція ряду фізіологічних процесів, таких як підтримка

розмноження і диференціювання кровотворних клітин, запуск і регуляція захисних реакцій, необхідних для відновлення гомеостазу при втіленні патогенів і порушення цілості тканин []. На підставі вищесказаного ми вважаємо провести дослідження цитокінової ланки імунітету у поколінні щурів самців і самок, отриманих від алкоголізованих попередників.

Не менш перспективними, на нашу думку, були також і дослідження процесів ПОЛ-АОС та активності уроканінази, як і багато дослідників [.....] відносять до “критичних” і генетично детермінованих систем.

4.1. Стан редокс-системи у самців і самок різного віку, отриманих від алкоголізованих попередників

В результаті проведених досліджень (табл. 4.1.) встановлено, що у печінці 1-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, вміст дієнових кон'югатів був на 15% вищим за контроль, а малонового диальдегіду - на 18,6%. У сироватці крові цих тварин вміст дієнових кон'югатів переважав рівень контролю на 19,1%, а малонового диальдегіду - на 16,7%. Активність каталази у печінці 1-місячних самок, попередники яких були алкоголізовані, проявляла деяку тенденцію до посилення, але виявлені відхилення мали недостовірний характер. В еритроцитах цих самок активність каталази також практично не відрізнялась від аналогічних значень контролю. Активність глутатіонтрансферази у печінці та еритроцитах крові 1-місячних самок, попередники яких були алкоголізовані перед спарюванням, також практично не відрізнялась від одновікового контролю. У печінці 1-місячних самок, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням попередників, спостерігалось зниження активності уроканінази відносно одновікового контролю і водночас у сироватці крові активність ферменту дорівнювала $1,8 \pm 0,03$ мкмоль/мл, що не є характерним для фізіологічного стану. Такі зміни активності уроканінази є ознакою наявності дестабілізації біологічної мембрани гепатоцитів.

Проведені дослідження вищезгаданих ферментних систем у 1-місячних самців, отриманих від алкоголізованих попередників, показали, що вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду у печінці та сироватці практично не відрізнялись від одновікового контролю. Паралельно з цим встановлено, що активність каталази у печінці та еритроцитах цих щурів була нижчою від одновікового контролю і стосовно останнього дорівнювала відповідно $88,2 \pm 88,3\%$. Активність глутатіонтрансферази у печінці також знижувалась відносно контролю і стосовно останнього дорівнювала $85,6\%$, а в еритроцитах крові практично не відрізнялась від останнього. Що стосується уроканіази та її активність була у печінці була нижчою за контроль на $10,5\%$ та виявлялась у сироватці і при цьому дорівнювала $0,8 \pm 0,02$ мкмоль/мл.

Таким чином, наведені вище результати досліджень свідчать про те, що у самців і самок 1-місячних щурів, отриманих від алкоголізованих попередників, виявляються певні відхилення зазначених процесів від одновікового контролю, що мабуть обумовлено деякими відхиленнями активності геномних структур внаслідок негативного впливу алкоголю на них у попередників.

Подальші дослідження дозволили встановити, що у 3-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, вміст дієнових кон'югатів у печінці та сироватці крові достовірно зростав, як по відношенню до показників попередньої вікової групи, так і стосовно контролю, перевершуючи його відповідно на $25,8$ і $30,2\%$. Вміст малонового диальдегіду у печінці та сироватці крові самок цієї вікової групи був вищим за значення одновікового контролю відповідно на $23,3$ і $28,9\%$. Дослідження активності антиоксидантних ферментів у печінці та еритроцитах показало, що у 3-місячних спостерігались досить істотні відхилення від фізіологічних показників. Так, наприклад, у печінці активність каталази знижувалась на $19,9\%$, порівняно з показниками одновікового контролю, а в еритроцитах - на $18,5\%$. Активність глутатіонтрансферази у печінці цих самок також

знижувалась і стосовно до контролю дорівнювала 83,35%, а в еритроцитах вона була нижчою від нього на 20,1%. Дослідження активності уроканіази у печінці 3-місячних самок, попередники яких були алкоголізованими, виявили її зниження стосовно одновікового контролю на 21,7%. У цих же тварин було виявлено, що активність уроканіази у сироватці крові зростала і при цьому більш як у 2 рази перевершувала показники 1-місячних самок, попередники яких були алкоголізованими. При обстеженні 3-місячних самців, отриманих від алкоголізованих попередників, було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів у печінці та сироватці крові достовірно збільшувався, порівняно з показниками одновікового контролю, і стосовно останнього відповідно дорівнював 118,3 і 117,7%. Вміст малонового діальдегіду у печінці та сироватці крові щурів-самців цієї експериментальної групи також зростав і при цьому переважав одновіковий контроль відповідно на 19,5 і 20,2%. Паралельно з зазначеними змінами у цих щурів-самців відбувалось в еритроцитах і печінці зниження активності каталази, порівняно з показниками контролю, відповідно на 19,2 і 19,7%. Активність глутатіонтрансферази в еритроцитах і печінці крові щурів-самців, отриманих від алкоголізованих попередників, також знижувалась, порівняно з аналогічними показниками одновікового контролю, і стосовно останнього дорівнювала відповідно 17,8 і 17,9%. Що стосується органо-специфічного ферменту уроканіази, то його активність у печінці була нижчою на 16,6% за показники одновікового контролю і при цьому вона виявлялась у сироватці крові та переважала аналогічні значення попередньої вікової групи у 2,5 рази.

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що з віком у самців і самок, отриманих від алкоголізованих попередників, відбувались більш істотні відхилення досліджених процесів. Такі явища можуть бути обумовлені декількома причинами і вперш за все змінами стаціонарного рівня у системі ПОЛ-АОС у бік накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів та зниженням антирадикальних процесів.

При обстеженні 6-місячних самок, отриманих від алкоголізованих щурів обох статей, було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці була вища за рівень одновікового контролю відповідно на 39,4 і 40,1%, а у сироватці крові - на 42,3 і 4,3%. Досить істотно у цих самок змінювалась в печінці та еритроцитах крові і активність каталази та глутатіонтрансферази. Так, наприклад, активність каталази у печінці була нижчою за контроль на 29,9%, а в еритроцитах крові - на 25,5%. У даному випадку також спостерігалось і зниження активності глутатіонтрансферази і при цьому вона стосовно одновікового контролю в еритроцитах дорівнювала 77,8%, а у печінці 73,3%. Активність уроканіази у печінці 6-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, достовірно знижувалась як по відношенню до показників попередніх вікових груп, так і контролю і стосовно останнього дорівнювала 72,2%. Такі зміни активності уроканіази у печінці, очевидно, сприяли появі цього ферменту у сироватці крові та кількість його була вищою ніж у 3-місячних самок на 17,4%.

Деякі менші зміни досліджених процесів були виявлені у 6-місячних самців, попередники яких були алкоголізовані. Встановлено, що у печінці та сироватці крові 6-місячних самців, попередники яких були алкоголізовані, вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду переважав аналогічні значення одновікового контролю відповідно на 24,6 і 26,7% та 30,1 і 32,2%. Було також встановлено, що активність каталази і глутатіонтрансферази у печінці та еритроцитах 6-місячних щурів-самців, попередники яких були алкоголізовані, достовірно знижувалась по відношенню до контролю і, стосовно останнього, відповідно дорівнювала 71,1 і 7,02 та 72,3 і 75,3%. У печінці цих тварин також спостерігалось зниження активності уроканіази, але в той же час її активність виявлялась у сироватці крові і дорівнювала вона $3,5 \pm 0,5$ мкмоль/мл, що недопустимо за фізіологічних умов.

Проведені дослідження зазначених процесів у 12-місячних самок також дозволили виявити цілий ряд відхилень не тільки по відношенню до

показників одновікового контролю, але і стосовно значень у попередніх вікових груп. Встановлено, що вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці і сироватці крові 12-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, була вищою від аналогічних значень контролю відповідно на 48,3 і 45,6% та 46,3 і 47,7%. У цих тварин також виявилось, що активність каталази і глутатіонтрансферази у печінці та еритроцитах 12-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, знижувалась, порівняно з контролем, відповідно на 36,6 і 38,9% та 38,9 і 35,4%. У цих тварин спостерігалось також зниження активності уроканіази у печінці, яка стосовно контролю дорівнювала 62,2%, а у сироватці крові – $5,9 \pm 0,7$ мкмоль/мл, що було достовірно вищим за показники усіх попередніх вікових груп самок та самців.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у 12-місячних самців, отриманих від алкоголізованих попередників, у печінці та сироватці вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду зростав як по відношенню до показників попередніх вікових груп таких тварин, так і контролю, перевершуючи останній відповідно на 36,4 і 37,7% та 38,1 і 39,4%. Проведені дослідження також показали, що у печінці та еритроцитах крові 12-місячних щурів-самців, попередники яких були алкоголізовані, спостерігалось зниження активності каталази та глутатіонтрансферази відносно контролю і, стосовно останнього, відповідно дорівнювала 61,5 і 62,2% та 60,2 і 61,8%. Активність уроканіази у печінці 12-місячних щурів-самців, отриманих від алкоголізованих тварин обох статей, різко знижувалась порівняно з контролем і стосовно останнього дорівнювала 59,9%. У сироватці крові цих тварин активність уроканіази дорівнювала $4,1 \pm 0,8$ і при цьому переважала показники у самців усіх попередніх вікових груп.

Найбільш істотні відхилення у функціонуванні досліджених процесів виявлені у 12-місячних самців і самок щурів, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, а самки навіть у період

вагітності. Так, наприклад, вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці та сироватці крові 24-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників обох статей, був вищим за рівень одновікових тварин відповідно на 53,7 і 55,6% та 57,7 і 56,1%. Активність каталази та глутатіонтрансферази у печінці та еритроцитах 24-місячних самок, отриманих від алкоголізованих щурів обох статей, стосовно до одновікового контролю, дорівнювала відповідно 55,3 і 54,4% та 56,7 і 59,3%. У печінці цих тварин також відбувалось зниження активності уроканіази на 47,9%, тоді як у сироватці крові активність ферменту сягала $8,7 \pm 0,9$ мкмоль/мл. Слід зауважити, що виявлена активність уроканіази була самою високою серед усіх експериментальних груп самців і самок різних вікових груп.

У 24-місячних самців у печінці та сироватці крові вміст дієнових кон'югатів різко збільшувався відносно одновікового контролю відповідно на 48,3 і 49,2% та 45,6 і 47,2%. І, навпаки, активність у печінці та еритроцитах крові каталази та глутатіонтрансферази різко знижувалась відносно контролю і при цьому, стосовно останнього, відповідно дорівнювала 50,1 і 51,3% та 52,2 і 50,1%. Активність уроканіази у печінці цих тварин також знижувалась відносно контролю на 49,5% і, навпаки, у сироватці крові сягала $6,1 \pm 0,8$ мкмоль/мл.

Таким чином, підводячи підсумок отриманим результатам, ми дійшли висновку про те, що у поколінні тварин, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців і самок щурів, спостерігався більш високий вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці та сироватці крові, порівняно з одновіковим контролем, за виключенням 1-місячних самців, у яких він знаходився на рівні контролю. Активність каталази та глутатіонтрансферази у печінці та еритроцитах крові одномісячних самок практично не відрізнявся від контролю, тоді як у самців цього віку вона була нижчою від останнього. В усіх наступних вікових групах щурів обох статей відбувалось поступові зниження активності ферментів, досягаючи мінімальних значень у 24-місячних тварин. Ці факти є ознакою того, що ці

тварини мають понижено неспецифічну резистентність, та процеси старіння у них відбуваються значно раніше ніж у одновікових інтактних щурів. Останнє є підтвердженням існуючих даних [], що надмірні кількості продуктів ПОЛ та низький рівень активності антиоксидантних ферментів є предикторами старіння. З іншого боку, такі зміни у системі ПОЛ-АОС супроводжувались змінням активності уроканіази у печінці та появою її у сироватці, що не є характерним для фізіологічного статусу, а обумовлює деструктивні зміни біологічних мембран гепатоцитів.

4.2. Продукція цитокінів МНПК у самок і самців різного віку, отриманих від алкоголізованих попередників.

Враховуючи існуючі дані [] щодо тісного взаємозв'язку процесів ПОЛ-АОС з функціональним станом цитокінової ланки антиоксидантної системи, нами були проведені дослідження останньої у поколінні тварин обох статей, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців і самок. Внаслідок таких досліджень (табл. 4.2.) встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-1 β МНПК у 1-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, переважала аналогічні значення контролю на 18,3%, а індукована - на 20,5%. У сироватці крові самок циркулюючий ІЛ-1 β не виявлявся. Дослідження продукції ІЛ-1 β у 1-місячних самців також виявило досить істотні її зміни. При цьому спонтанна продукція ІЛ-1 β МНПК переважала рівень контролю на 15,4%, а індукована - на 17,6% і в сироватці крові ІЛ-1 β також не виявлявся. У трьохмісячних самок, попередники яких були алкоголізовані, спонтанна продукція ІЛ-1 β МНПК переважала показники одновікового контролю на 38,4%, а індукованої - на 35,7%. В той же час абсолютні показники спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β МНПК у 3-місячних самок не відрізнялись від аналогічних значень 1-місячних самок цього покоління. У 3-місячних самців, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, спонтанна продукція ІЛ-1 β переважала рівень одновікового контролю на 30,5%, а індукованої – на

25,6%. Слід зазначити, що у самок і самців експериментальної групи цього віку циркулюючий ІЛ-1 β у сироватці крові не виявлявся. При обстеженні 6-місячних самок-щурів, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-1 β була вищою за рівень одновікового контролю на 40,2%, а індукована – на 42,4%. У самців цієї вікової групи, отриманих від тварин обох статей, які перед спарюванням вживали алкоголь, спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β МНПК також переважала показники контролю і, стосовно до останнього, відповідно дорівнювала 138,1 і 133,3%. Слід підкреслити, що в абсолютних показниках спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β МНПК у самок вона була достовірно вищою ніж у самців.

Проведені дослідження у 12-місячних самок, попередники яких тривалий час вживали алкоголь, показали, що спонтанна продукція ІЛ-1 β МНПК достовірно посилювалась, як по відношенню до показників попередньої вікової групи, так і контролю і, стосовно останнього, вона дорівнювала 16,7%. Індукована продукція ІЛ-1 β у цих тварин також посилювалась і по відношенню до показників попередньої вікової та контролю, переважаючи останній на 70,3%. У самців цієї вікової групи, отриманих від тварин обох статей, які перед спарюванням вживали алкоголь, показники спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β МНПК були вищими за значення одновікового контролю відповідно на 50,2 і 65,4%. Характерним для цієї вікової групи самців і самок, попередники яких вживали алкоголь, було те, що спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β МНПК була також достовірно вищою від показники усіх попередніх груп. Важливим був і той факт, що продукція ІЛ-1 β у самок достовірно переважала показники самців. При обстеженні 24-місячних самок виявлено, що спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β МНПК переважала рівень одновікового контролю відповідно на 65,3 і 78,6%. У 24-місячних самців, попередники яких були алкоголізовані, спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β переважала рівень контролю відповідно на 55,1 і 69,2%. Підвищення спонтанної та індукованої

продукції ІЛ-1 β в усіх вікових групах самців і самок, отриманих від алкоголізованих попередників, порівняно з одновіковим контролем свідчить про наявність ендогенної активації мононуклеарів периферійної крові.

У зв'язку з тим, що клітинами-продуцентами ІЛ-1 β являються CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺ - лімфоцити, вищепераховані субпопуляції були досліджені у різновікових експериментальних і контрольних самок і самців (табл. 4.3.). В результаті таких досліджень встановлено, що у 1-місячних самок, попередники яких перед спарюванням були алкоголізовані, вміст CD4⁺ переважав рівень контролю на 20,1%, CD8⁺ - на 25,4%, CD16⁺ - на 28,3 і CD20⁺ - на 24,4%, а загальна кількість клітин-продуцентів дорівнювала 18,8, що було на 24,1% вище за контроль. У самців цієї вікової групи загальна кількість лімфоцитів переважала контроль на 11,9%, що викликано збільшенням кожної окремої субпопуляції лімфоцитів. Звертає на себе увагу той факт, що у самок збільшення кількості кожної субпопуляції лімфоцитів порівняно з показниками самців.

Дослідження субпопуляційного складу лімфоцитів у 3-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням, показали, що їх кількість зростала, порівняно з аналогічними значеннями попередньої вікової групи та контролю, і переважала останній відповідно на 20,5 та 14,1%. Слід підкреслити, що і в даному випадку кількість лімфоцитів у абсолютних показниках була вищою у самок ніж у самців. У 6-місячних самок та самців, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, вміст усіх субпопуляцій лімфоцитів продовжував зростати, порівняно з показниками у попередніх вікових групах, і при цьому переважав контроль відповідно на 36,9 та 40,2%, але в абсолютних показниках у самок їх кількість була вищою ніж у самців. При обстеженні 12-місячних самок та самців, покоління отриманого від попередників, які тривалий час вживали алкоголь, було встановлено, що кількість лімфоцитів в абсолютних показниках зменшувалась, порівняно з аналогічними значеннями 6-місячних

тварин, але в той час переважала контроль відповідно на 71,6 та 60,1%. Необхідно також підкреслити, що і в даному випадку абсолютні показники усіх субпопуляцій лімфоцитів були вищими у самок. У 24-місячних самок і самців, отриманих від попередників, які тривалий час вживали алкоголь, спостерігалось різке зменшення усіх субпопуляцій лімфоцитів як по відношенню до їх значень усіх попередніх вікових груп експериментальних тварин, так і контролю і стосовно останнього відповідно дорівнювала 80,4 і 85,4%. Слід також підкреслити, що у даній віковій групі експериментальних тварин практично відсутні відмінності у показниках між самками і самцями. Аналіз отриманих результатів досліджень свідчить про те, що тривале вживання алкоголю самцями перед спарюванням, а самками навіть у період вагітності, негативно впливало на процеси утворення лімфоцитів усіх популяцій у першому поколінні, отриманому від цих тварин.

У зв'язку з вищенаведеним досить цікавими були результати дослідження спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β у перерахуванні на клітину-продуцент (табл. 4.4.). Внаслідок таких розрахунків встановлено, що у 1-місячних самок та самців, отриманих від тварин обох статей, які тривалий час вживали алкоголь, показники спонтанної продукції ІЛ-1 β МНПК у перерахуванні на клітину-продуцент практично не відрізнялись від одновікового контролю. Окрім того, індукована продукція ІЛ-1 β МНПК у перерахуванні на клітину-продуцент також практично не відрізнялась від показників одновікового контролю. Відсутність достовірних відмінностей між показниками індукованої продукції ІЛ-1 β у перерахуванні на клітину-продуцент у контрольній групі 1-місячних тварин обох статей та самок і самців одного віку експериментальної групи є ознакою зниження функціональних резервів клітин відповідати продукцією ІЛ-1 β на антигенний стимул. Індекс стимуляції (відношення індукованої продукції до спонтанної) у 1-місячних інтактних самок дорівнював 6,7 і у самців 7,1 і 1-місячних експериментальних самок – 6,8 і самців – 8,0. при подальших дослідженнях було встановлено, що спонтанна та індукована продукція у перерахуванні на

клітину-продуцент 3-місячних самок і самців, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, посилювалась відповідно на 96,3 і 89,0% та 92,3 і 73,7%. Індекс стимуляції у 3-місячних самок дорівнював 6,5 і самців – 6,6. У 6-місячних самок і самців, покоління отриманого від алкоголізованих тварин обох статей, спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β МНПК у перерахуванні на клітину-продуцент практично не відрізнялась від аналогічних значень одновікового контролю. Індекс стимуляції у самок цієї експериментальної групи дорівнював 6,4 і у самців - 6,6, тобто у самок він практично не відрізнявся від контролю, а у самців був нижчим від останнього.

Розрахунки спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β на клітину-продуцент у 12-місячних самок і самців, отриманих від тварин обох статей, які перед спарюванням вживали алкоголь, також практично не відрізнялись від одновікового контролю. Індекс стимуляції у самок цієї експериментальної групи дорівнював 7,3 і у самців – 7,7. Під час досліджень встановлено, що спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β МНПК у перерахуванні на клітину-продуцент у 24-місячних самок у першому випадку практично не відрізнялась від одновікового контролю, а у другому була вищою від останнього на 124,6%. У експериментальних самців цього віку спонтанна продукція ІЛ-1 β МНПК у перерахуванні на клітину-продуцент, переважала контроль на 84,3%, а індукована – на 100%. Таке явище, очевидно, обумовлено не посиленням клітин відповідати на антигенний стимул, а різким зниженням клітин-продуцентів. У даному випадку індекс стимуляції у самок дорівнював 10,3 і у самців 7,7, що у першому випадку переважало контроль на 34,0%, а у другому – практично не відрізнявся від останнього. У той же час отримані дані при дослідженні ІЛ-1 β у сироватці периферійної крові показали, що активація МНПК в усіх експериментальних групах тварин не приводять до появи цього цитокіну у циркуляції. Як вже зазначалось вище відсутність ІЛ-1 β у сироватці крові в усіх експериментальних групах тварин є ознакою наявності розчинних форм рецептора ІЛ-1 β , або наявністю антитіл

до ІЛ-1 β . Наведені факти, з нашої точки зору, ще раз підтверджують про важливу роль ІЛ-1 β у розвитку алкогольної хвороби печінки та у зниженні функціональної функції печінки у першому поколінні, отриманого від алкоголізованих попередників.

Досить цікавими з цих позицій були результати досліджень продукції ФНП- α МНПК у самок і самців різних вікових груп, отриманих від тварин, які перед спарюванням вживали алкоголь (табл. 4.2.). Внаслідок цих досліджень встановлено, що спонтанна та індукована продукція ФНП- α у 1-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, досить істотно відрізнялась від одновікового контролю. Так, наприклад, спонтанна продукція ФНП- α у самок переважала контроль відповідно на 25,6 і 18,3%. Паралельно з цим спостерігалось зниження індукованої продукції ФНП- α МНПК у самок - на 17,7 а у самців - на 15,5%. Вміст ФНП- α у циркулюючій крові у самок був вищим за рівень контролю на 15,2%, а у самців - на 10,8%. У 3-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, спонтанна продукція ФНП- α збільшувалась порівняно з одновіковим контролем відповідно на 45,6 і 39,1%, в той час як індукована продукція знижувалась порівняно з останнім на 24,9 та 21,8%. У сироватці периферійної крові вміст ФНП- α у самок і самців зростав відносно контролю відповідно на 35,4 і 28,3%. Дослідження спонтанної продукції ФНП- α у 6-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, показали, що вона зростала порівняно з одновіковим контролем відповідно на 45,3 і 40,1%. Індукована продукція ФНП- α МНПК у цей час у самок і самців знижувалась порівняно з одновіковим контролем на 32,8 і 31,4%. Вміст циркулюючого в сироватці периферійної крові ФНП- α у 6-місячних самців і самок, попередники яких тривалий час вживали алкоголь, переважав рівень одновікового контролю відповідно на 40,9 і 69,1%. Проведені дослідження спонтанної продукції ФНП- α МНПК показали, що вона у 12-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням щурів, переважала показники як і в усіх попередніх вікових

групах, так і контролю і стосовно останнього відповідно дорівнювала 165,6 і 155,8%. Паралельно з цим спостерігалось зниження індукованої продукції ФНП- α порівняно з контролем у самок - на 49,8 і 43,6%. У сироватці периферійної крові самок і самців цієї експериментальної групи вміст ФНП- α переважав рівень контролю відповідно на 69,1 і 52,3%. Найбільш висока спонтанна продукція ФНП- α МНПК була виявлена у 24-місячних самок і самців, попередники яких перед спарюванням були алкоголізовані, і при цьому переважала рівень одновікового контролю відповідно на 67,2 і 56,3%. У цей же час індукована продукція ФНП- α у самок була нижчою за одновіковий контроль на 48,9% і у самців – на 47,8%. Вміст ФНП- α у сироватці периферійної крові самок переважав показники одновікового контролю на 66,0% і у самців на 53,3%.

Таблиця 4.5

Показники індексу стимуляції продукції ФНП- α у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників

Контроль Вік тварини		Індекс стимуляції	Дослід Вік тварин		Індекс стимуляції	
					абс. пок.	в % до контролю
1м	самки	3,7	1м	самки	2,4	64,8
	самці	3,9		самці	2,9	74,4
3м	самки	6,0	3м	самки	3,1	51,7
	самці	6,0		самці	3,4	56,7
6м	самки	3,2	6м	самки	1,5	46,9
	самці	4,1		самці	2,0	48,8
12м	самки	2,6	12м	самки	1,8	30,8
	самці	3,1		самці	1,1	35,5
24м	самки	2,1	24м	самки	0,6	28,5
	самці	2,3		самці	0,8	34,8

$P < 0,05$ стосовно контролю в усіх випадках

Таким чином, результати досліджень показали, що спонтанні продукція ФНП- α МНПК у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, в усіх вікових групах була вищою за одновіковий контроль і при цьому абсолютні показники були самими високими у 12- і 24-місячних тварин. Звертає на себе увагу той факт, що в усіх експериментальних групах тварин спостерігалось зниження індукованої продукції ФНП- α МНПК. Зниження можливості клітин продукувати ФНП- α у відповідь на антигенний стимул переконливо доводиться при з'ясуванні відношення індукованої продукції цитокіну до спонтанної (індекс стимуляції). Результати таких досліджень приведені в таблиці 4.5., згідно яких індекс стимуляції різко знижувався, порівняно з контролем, досягаючи мінімальних значень у 12- і 24-місячних самок та самців, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням тварин обох статей. Слід також підкреслити, що більш глибокі зміни спостерігались у експериментальних самок ніж у самців усіх вікових груп. Отже, порушення продукції ФНП- α МНПК у відповідь на антигенну стимуляцію посилювалось зі збільшенням віку тварин і було більш виразним у самок. Як вже зазначалось, виявлені особливості можуть бути пов'язані з тривалою гіперпродукцією ФНП- α МНПК в алкоголізованих перед спарюванням самок і самців та наступним порушенням аутокринної регуляції цитокіна та рефрактерністю клітин-продуцентів до антигенного стимулу у першому поколінні, отриманому від цих тварин.

У зв'язку з вищенаведеним, представляється цікавим порівняння рівня спонтанної та індукованої продукції ФНП- α МНПК у перерахуванні на клітину-продуцент, так як вивчення продукції цитокіна *in vitro* проводилась у супернатантах при культивуванні цільної крові. Внаслідок таких розрахунків встановлено (табл. 4.3.), що спонтанна продукція ФНП- α на клітину-продуцент практично в усіх вікових групах самок і самців, отриманих від алкоголізованих тварин, майже не відрізнялась від аналогічних значень одновікового контролю. Виключення складала тільки спонтанна продукція ФНП- α у перерахуванні на клітину-продуцент у 24-місячних самок та самців

народжених від алкоголізованих тварин, яка переважала рівень одновікового контролю відповідно на 108,0 і 80,9%.

Ще однією особливістю було підвищення рівня ФНП- α у периферійній крові самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, порівняно з одновіковим контролем, виразність якого в повній мірі залежала від віку та статі цих тварин. Так, наприклад, у 1-місячних самок і самців, отриманих від тварин, які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, вміст ФНП- α зростав, порівняно з контролем, відповідно на 15,2 та 10,8%. У 3-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням тварин, також достовірно зростала кількість ФНП- α циркулюючого у сироватці периферійної крові стосовно одновікового контролю, а в абсолютних показниках майже не відрізнялась від попереднього терміну. При обстеженні самок і самців віком 6 місяців, отриманих від алкоголізованих попередників, виявилось, що вміст циркулюючого у сироватці периферійної крові ФНП- α достовірно зростав як по відношенню до аналогічних значень попередньої вікової групи, так і контролю, переважаючи останній відповідно на 45,1 і 40,9%. У 12-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, вміст ФНП- α у сироватці периферійної крові також збільшувався як по відношенню до аналогічних значень 6-місячних тварин, так і контролю і при цьому був вищим за рівень останнього відповідно на 69,1 і 52,3%. Вміст циркулюючого ФНП- α у сироватці периферійної крові у 24-місячних самок і самців, попередники яких були алкоголізовані, проявляв тенденцію до збільшення відносно аналогічних значень 12-ти місячних тварин і водночас переважав рівень одновікового контролю відповідно на 66,6 і 53,3%.

Таким чином, достовірне підвищення рівня ФНП- α у сироватці периферійної крові в усіх вікових групах самок і самців, народжених від алкоголізованих тварин, очевидно, обумовлено негативним впливом алкоголю на механізми зв'язування цитокіну зі своїм рецептором у батьків, що призвело до модифікації цих процесів у поколінні та формуванням

тримерів ФНП- α у них, які погано виводяться з циркуляції []. Можливо, що наявність таких тримерів цитокіну у периферійній крові нащадків алкоголізованих тварин є генетично зумовленим процесом і приводить до постійної активації не тільки клітин імунної системи, але і інших клітин організму (в тому числі і гепатоцитів), імітуючи у них оксидантний стрес та посилюючи деструктивні процеси. Такий механізм підтверджений нашими дослідженнями взаємодії в системі ПОЛ-АОС та появою у сироватці крові ферменту урканінази. Наведені факти є доказом того, що тривале вживання алкоголю викликає незворотні зміни не тільки у тканинах печінки I-го покоління від алкоголізованих попередників, але свідчать, що одну із провідних ролей у цьому процесі відіграє цитокінова ланка імунітету, і, зокрема, такі цитокіни як ІЛ-1 β і ФНП- α . Гіперпродукція цих цитокінів у батьків-алкоголіків і підвищений вміст ФНП- α у сироватці периферійної крові, очевидно, приймають участь у генетичних процесах і, мабуть, як наслідок, виявляються у I-му поколінні цих тварин. Очевидним є і той факт, що виявлені зміни досліджуваних процесів були більш глибокими у самок ніж у самців.

Виходячи із викладених вище позицій, на наш погляд, були дослідження класичного хемоаттрактанта – цитокіну ІЛ-8, який останнім часом характеризується як потужний літоген []. На підставі проведені дослідження продукції ІЛ-8 *in vivo* та *in vitro* в усіх вікових групах самок і самців, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням тварин (табл. 4.6.). Внаслідок таких досліджень встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-8 у 1-місячних самок і самців, попередники яких тривалий час перед спарюванням вживали алкоголь, перевершувала аналогічні значення інтактних тварин відповідно на 20,5 і 10,4%. У цей же час індукована продукція ІЛ-8 у самок, отриманих від алкоголізованих тварин, була нижчою за контроль на 14,5%, тоді як у самців вона практично не відрізнялась від останнього. Дослідження спонтанної продукції у 3-місячних тварин, отриманих від алкоголізованих попередників, показали, що у самок і самців

спостерігалось її посилення порівняно з показниками попередньої вікової групи та контролю і при цьому вона переважала останній відповідно на 82,6 та 71,2%. Індукована продукція ІЛ-8 у самок і самців, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, достовірно знижувалась як по відношенню до її значень в 1-місячних тварин, так і одновікового контролю і, стосовно останнього, відповідно дорівнювала 70,2 і 85,6%. У 6-місячних самок і самців, попередники яких були алкоголізовані перед спарюванням, встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-8 переважала в абсолютних значеннях показники усіх попередніх вікових груп і при цьому, стосовно контролю, відповідно дорівнювала 210,5 і 195,3%. Встановлено, що 12-місячних самок і самців, які являлись нащадками щурів, що тривалий час вживали алкоголь, спонтанна продукція в абсолютних показниках продовжувала зростати відносно усіх попередніх груп і при цьому переважала рівень одновікового контролю відповідно на 130,3 і 118,6%.

Що стосується індукованої продукції ІЛ-8 у самок і самців цієї експериментальної групи, то вона достовірно знижувалась як по відношенню до показників попередньої вікової групи, так і стосовно одновікового контролю, дорівнюючи відповідно 50,1 і 52,8%. Під час дослідження спонтанної продукції ІЛ-8 у самок і самців віком 24 місяці, попередники яких тривалий час вживали алкоголь, різко знижувалась відносно значень у 12-місячних тварин, але стосовно контролю вона залишалась вищою у першому випадку на 10,4%, а у другому – практично не відрізнялась від останнього. Індукована продукція ІЛ-8 у 24-місячних самок і самців, попередники яких були алкоголізовані, була найнижчою серед аналогічних значень попередніх вікових груп і, стосовно до контролю, відповідно дорівнювала 40,3 та 45,4%.

Таким чином, наведені результати досліджень показали, що спонтанна продукція ІЛ-8 в усіх вікових групах самок і самців, попередники яких були алкоголізовані, була нижчою від аналогічних значень одновікового контролю, при чому найбільш високою вона була у 12-місячних тварин. У той же час індукована продукція ІЛ-8 в усіх експериментальних групах була

достовірно нижчою від контролю. Зниження продукції ІЛ-8 у відповідь на антиген також підтверджувалось зниженням індексу стимуляції (табл. 4.7.).

Таблиця 4.7

Показники індексу стимуляції продукції ІЛ-8 у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників

Контроль Вік тварини		Індекс стимуляції	Дослід Вік тварин		Індекс стимуляції	
					абс. пок.	в % до контролю
1м	самки	16,2	1м	самки	11,5	71,0
	самці	17,0		самці	13,8	81,5
3м	самки	17,3	3м	самки	6,7	38,7
	самці	17,9		самці	8,9	50,0
6м	самки	10,7	6м	самки	3,1	28,6
	самці	12,4		самці	3,6	28,9
12м	самки	9,6	12м	самки	2,1	21,8
	самці	11,0		самці	2,7	24,1
24м	самки	8,1	24м	самки	3,0	37,0
	самці	9,2		самці	3,9	42,7

$P < 0,05$ стосовно одновікового контролю в усіх випадках

При цьому необхідно підкреслити, що різке зниження індексу стимуляції спостерігалось у самок починаючи з 3-місячного віку і мінімальних значень він набував у 12-місячних тварин. Після 12-місячного віку у самок відзначалось збільшення індексу стимуляції, але все ж таки він залишався нижчим за контроль на 63,0%. У самців індекс стимуляції різко знижувався у 3-місячному віці і мінімальні значення були виявлені у 12-місячних щурів. І в даному випадку спостерігалось його посилення у 24-місячних самців, але стосовно одновікового контролю він дорівнював 42,7%.

При дослідженні рівня ІЛ-8 у сироватці крові було встановлено достовірне підвищення циркулюючого ІЛ-8 у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, починаючи з 3-місячного віку. Максимальних значень рівень циркулюючого у сироватці крові ІЛ-8 досягав у самок і самців

24-місячного віку. Необхідно також зазначити, у самок усіх вікових груп рівень циркулюючого у сироватці крові ІЛ-8 був значно вищим в абсолютних показниках за аналогічні значення одновікових самців.

Таблиця 4.8

Показники продукції МНПК ІЛ-8 у перерахуванні на клітину-продуцент у тварин, попередники яких були алкоголізовані (пг)

Умови досліду			Продукція ІЛ-1 β		
			спонтанна	індукована	
Вік тварини					
Контроль	1м	самки	0,40 x 10 ⁻³	7,1 x 10 ⁻³	
		самці	0,40 x 10 ⁻³	6,9 x 10 ⁻³	
	3м	самки	0,30 x 10 ⁻³	5,2 x 10 ⁻³	
		самці	0,32 x 10 ⁻³	5,5 x 10 ⁻³	
	6м	самки	0,35 x 10 ⁻³	3,8 x 10 ⁻³	
		самці	0,39 x 10 ⁻³	4,8 x 10 ⁻³	
	12м	самки	0,60 x 10 ⁻³	5,4 x 10 ⁻³	
		самці	0,50 x 10 ⁻³	5,5 x 10 ⁻³	
	24м	самки	0,60 x 10 ⁻³	5,1 x 10 ⁻³	
		самці	0,54 x 10 ⁻³	5,0 x 10 ⁻³	
	Дослід	1м	самки	0,43 x 10 ⁻³	5,0 x 10 ⁻³
			самці	0,40 x 10 ⁻³	5,6 x 10 ⁻³
3м		самки	0,46 x 10 ⁻³	3,1 x 10 ⁻³	
		самці	0,44 x 10 ⁻³	3,9 x 10 ⁻³	
6м		самки	0,56 x 10 ⁻³	1,7 x 10 ⁻³	
		самці	0,53 x 10 ⁻³	1,9 x 10 ⁻³	
12м		самки	0,76 x 10 ⁻³	1,6 x 10 ⁻³	
		самці	0,69 x 10 ⁻³	1,8 x 10 ⁻³	
24м		самки	0,88 x 10 ⁻³	2,6 x 10 ⁻³	
		самці	0,69 x 10 ⁻⁴	2,7 x 10 ⁻³	

*P > 0,05 стосовно одновікового контролю

Таблиця 4.9

Показники продукції МНПК ІЛ-2 і ІЛ-4 у тварин, попередники яких були
алкоголізовані
($M \pm m$; $n = 10$)

Умови дослідку		Вік тварини	ІЛ-2 (од/мл)	ІЛ-4 (пг/мл)		
			Індукована продукція МНПК	Продукція		У сироватці крові
				спонтанна	індукована	
Контроль	1м	самки	20,0 ± 1,2 120,2	130,2 ± 2,3 130,2	64,0 ± 3,1 140,1	31,0 ± 1,3 115,6
		самці	16,0 ± 1,3 115,3	30,0 ± 1,9 120,4	40 ± 2,6 130,1	25,0 ± 1,4 110,2
	3м	самки	17,0 ± 1,8	33,0 ± 2,1	46,0 ± 2,4	27,0 ± 1,2
		самці	14,0 ± 1,3	25,0 ± 1,4	31,0 ± 1,9	23,0 ± 1,3
	6м	самки	18,0 ± 1,6 106,7	36,0 ± 2,1 109,3	50,0 ± 30, 108,1	28 ± 1,6 101,6
		самці	14,0 ± 1,3 103,2	26,0 ± 1,8 105,7	32,0 ± 1,9 103,3	23,0 ± 1,8 99,4
	12м	самки	13,0 ± 1,2 80,3	40,0 ± 2,4 120,3	64,0 ± 3,2 140,1	34,0 ± 2,0 125,9
		самці	12,0 ± 1,0 90,3	29,0 ± 1,9 117,4	40,0 ± 2,7 130,2	27,0 ± 1,2 116,3
	24м	самки	12,0 ± 0,9 70,1	28,0 ± 1,6 85,9	37,0 ± 1,9 80,1	21,0 ± 1,1 79,3
		самці	13,0 ± 1,3 80,2	22,0 ± 1,4 90,2	27,0 ± 1,5 87,7	19,0 ± 1,4 82,2

Продовження таблиці 4.9

Дослід	1м	самки	17,0 ± 1,2 85,6	64,0 ± 3,2 150,1	102,0 ± 5,2 160,2	37,0 ± 2,1 120,3
		самці	14,0 ± 1,5* 91,2	42,0 ± 4,1 140,2	60,0 ± 2,7 150,4	29,0 ± 1,5 115,6
	3м	самки	14,0 ± 1,3 80,9	53,0 ± 2,8 160,7	78,0 ± 4,0 170,3	35,0 ± 2,2 130,4
		самці	11,0 ± 1,0 81,4	38,0 ± 2,3 153,8	51,0 ± 2,8 166,4	29,0 ± 1,9 125,8
	6м	самки	12,0 ± 1,1 70,4	64,0 ± 3,1 177,3	93,0 ± 3,9 185,3	39,0 ± 2,5 140,6
		самці	10,0 ± 0,9 76,3	43,0 ± 2,2 166,2	55,0 ± 2,5 171,1	31,0 ± 1,6 134,4
	12м	самки	8,0 ± 0,7 63,4	54,0 ± 2,9 135,6	96,8 ± 3,8 151,3	43,0 ± 2,4 128,3
		самці	8,0 ± 0,6 68,6	37 ± 1,9 126,3	56 ± 2,1 140,2	33 ± 1,7 124,6
	24м	самки	7,0 ± 0,5 60,2	22 ± 1,3 80,3	28 ± 1,9 75,6	17 ± 1,2 82,2
		самці	8,0 ± 0,4 64,4	19 ± 1,4 87,7	22 ± 1,4 80,6	16 ± 1,3 84,3

*P<0,05 стосовно контролю в усіх випадках

Дослідження клітинного імунітету проведені раніше виявили, що у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, починаючи з 1-місячного і по 12-місячний вік, кількість Т-лімфоцитів неухильно зростала, а у 24-місячних - різко знижувалась. Кількість продукованого ІЛ-8 була перерахована на клітину-продуцент (табл. 4.8.). Внаслідок таких розрахунків встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-8 на клітину-продуцент у 1- і 3-місячних самок і самців практично не відрізнялась від одновікового

контролю, а починаючи з 6-місячного і по 24-місячних вік, відбувалось достовірне посилення її порівняно з контролем. Паралельно з означеними змінами спостерігалось різке пригнічення індукованої продукції на клітину-продуцент. Максимальні зміни були виявлені у 12-місячних самок самців, попередники яких тривалий час вживали алкоголь. Тобто виявлені зміни продукції ІЛ-8 на клітину-продуцент віддзеркалювали ті ж закономірності, виявлені при дослідженні *in vitro* у цільній крові.

Отже, значне підвищення вмісту ІЛ-8 циркулюючого у сироватці периферійної крові і різке зниження індукованої продукції, можливо є наслідком відсутності відповіді на антиген у експериментальній групі самок і самців наявністю механізму зворотного зв'язку і при цьому ІЛ-8, що циркулює у крові, зв'язується зі своїм рецептором, внаслідок чого блокується проведення сигналу.

У зв'язку з тим, що ІЛ-6 відіграє важливу у переході активованих В-лімфоцитів до Іg- продукуючих клітин і останні являються одними з основних клітин-мішеней для цього цитокіну, то нами проведені дослідження продукції його у різних вікових групах покоління самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників. Внаслідок таких досліджень встановлено (табл. 4.6.), що спонтанна продукція ІЛ-6 МНПК у 1-місячних самок, попередники яких були алкоголізовані, переважала рівень одновікового контролю на 33,4%, а у самців цього віку вона була вищою за останній на 24,5%. При обстеженні 3-місячних самок встановлено, що спонтанна продукція ІЛ-6 продовжувала зростати не тільки по відношенню до одновікового контролю, але і стосовно показників 1-місячних тварин. У 3-місячних самців спонтанна продукція ІЛ-6 МНПК також істотно посилювалась відносно 1-місячних щурів та контролю, переважаючи останній на 57,3%. Під час проведених досліджень також встановлено, що у 6-місячних самок, отриманих від попередників, які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, спонтанна продукція ІЛ-6 знову посилювалась порівняно з контролем на 80,3%, але в абсолютних показниках

вона не відрізнялась від значень 3-місячних самок. У 6-місячних самців також спостерігалось посилення спонтанної продукції ІЛ-6. Слід підкреслити, що у самців цього віку спонтанна продукція ІЛ-6 зростала не тільки порівняно з контролем, але і стосовно значень 3-місячних щурів. В результаті проведених досліджень спонтанної продукції ІЛ-6 МНПК у 12-місячних самок було встановлено, що вона зростала відносно контролю на 10,3% і в абсолютних значеннях переважала показники попередньої вікової групи. Також було виявлено, у 12-місячних самців відбувалось посилення спонтанної продукції, яка переважала контроль на 20,5% і водночас була достовірно нижча ніж у 3-місячних щурів. У самок віком 24 місяці спонтанна продукція ІЛ-6 МНПК різко знижувалась як по відношенню до значень 12-місячних тварин, так і контролю і була нижчою від останнього на 19,9%. Встановлено також, що у 24-місячних самців інтенсивність спонтанної продукції ІЛ-6 була достовірно нижча за аналогічні значення 12-місячних тварин і знаходилась на рівні одновікового контролю.

У сироватці крові 1-місячних самок вміст ІЛ-6 переважав рівень контролю на 183,%, а у самців вік практично не відрізнявся від останнього. Вміст циркулюючого у сироватці крові ІЛ-6 3-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, на 85,3% переважав рівень контролю, а у самців цього віку був вищим з останній на 70,4%. При дослідженні циркулюючого ІЛ-6 у сироватці крові 6-місячних самок і самців було встановлено, що він переважав рівень одновікового контролю відповідно на 90,3 і 68,4%. В абсолютних значеннях рівень ІЛ-6 у даному випадку переважав показники 3-місячних тварин. У 12-місячних самок, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, вміст у сироватці крові ІЛ-6 переважав рівень одновікового контролю на 40,2%, а у самців - на 30,3%. Слід також підкреслити, що у самок і самців цього віку показники вмісту ІЛ-6 у сироватці крові в абсолютних числах були нижчими ніж у 6-місячних. Дослідження вмісту у сироватці крові ІЛ-6 24-місячних самок

показали, що він був нижчим за рівень контролю на 17,3%, а у самців цього віку - на 22,4%.

Таблиця 4.10

Показники продукції МНПК ІЛ-2 і ІЛ-4 у перерахуванні на клітину-продуцент у тварин, попередники яких були алкоголізовані (пг)

Умови досліджу		Вік тварини	Продукція ІЛ-2		Циркулюючий ІЛ-4 на клітину-продуцент	
Контроль	1м	самки	22,0	10^{-6}	$1,1 \times 10^{-4}$	
		самці	21,0	10^{-6}	$1,3 \times 10^{-4}$	
	3м	самки	16,3	10^{-6}	$8,8 \times 10^{-4}$	
		самці	15,5	10^{-6}	$0,9 \times 10^{-4}$	
	6м	самки	15,7	10^{-6}	$0,7 \times 10^{-4}$	
		самці	16,2	10^{-6}	$0,8 \times 10^{-4}$	
	12м	самки	17,0	10^{-6}	$1,4 \times 10^{-4}$	
		самці	17,7	10^{-6}	$1,3 \times 10^{-4}$	
	24м	самки	17,5	10^{-6}	$1,1 \times 10^{-4}$	
		самці	20,4	10^{-6}	$1,2 \times 10^{-4}$	
	Дослід	1м	самки	15,7	10^{-6} 71,4	$1,1 \times 10^{-4}$
			самці	16,8	10^{-6} 80,0	$1,4 \times 10^{-4}$
		3м	самки	11,4	10^{-6} 69,9	$0,8 \times 10^{-4}$
			самці	10,8	10^{-6} 69,6	$0,9 \times 10^{-4}$
		6м	самки	7,9	10^{-6} 50,3	$0,8 \times 10^{-4}$
			самці	8,1	10^{-6} 50,0	$0,9 \times 10^{-4}$
12м		самки	6,3	10^{-6} 37,1	$1,0 \times 10^{-4}$	
		самці	7,4	10^{-6} 41,8	$1,0 \times 10^{-4}$	
24м		самки	12,8	10^{-6} 73,1	$1,1 \times 10^{-4}$	
		самці	14,9	10^{-6} 74,5	$1,1 \times 10^{-4}$	

*P > 0,05 стосовно одновікового контролю

Таким чином, зниження відповіді на індуктор в експериментальних самок і самців усіх вікових груп, попередники яких перед спарюванням вживали алкоголь, може бути зв'язано з високим рівнем ІЛ-6, що циркулює у сироватці периферійної крові. Наявність високих показників ІЛ-6, що циркулює у сироватці крові є ознакою безпосереднього впливу цитокіну на клітини-мішені.

У зв'язку з тим, що ІЛ-2 відіграє істотну роль у функціонуванні Т-клітинної ланки імунітету, нами були проведені дослідження індукованої продукції цього цитокіну у тварин І-го покоління, отриманого від алкоголізованих попередників. В результаті таких досліджень встановлено (табл. 4.2.8.), що у 1-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, індукована продукція ІЛ-2 МНПК була нижчою за показники одновікового контролю на 14,4%, тоді як у самців цього покоління вона практично не відрізнялась від фізіологічного рівня.

Дослідження індукованої продукції ІЛ-2 МНПК у самок 3-місячного віку дозволили встановити, що вона була нижчою від аналогічних значень одновікового контролю на 19,1%, а у самців цього покоління - на 18,6%. Наведені факти також свідчать, що у 6-місячних самок покоління, отриманого від алкоголізованих попередників, індукована продукція ІЛ-2 МНПК на 29,6% була нижчою за показники одновікового контролю, а у самців вона стосовно останнього дорівнювала 76,3%. У 12-місячних самок покоління, якого попередники тривалий час вживали алкоголь, індукована продукція ІЛ-2 була нижчою за показники одновікового контролю на 36,6%, тоді як у самців цього покоління вона стосовно останнього становила 68,6%. При дослідженні індукованої продукції ІЛ-2 у 24-місячних самок покоління, отриманого від алкоголізованих попередників, встановлено, що вона була нижчою за одновіковий контроль на 39,8%, а у самців на 35,6%. У зв'язку з тим, що продукція ІЛ-2 тісно пов'язана з кількістю клітин, що продукують цей цитокін, то була вивчена його продукція у перерахуванні на клітину-продуцент. Як видно з наведених результатів дослідження (табл. 4.10.)

продукція ІЛ-2, у перерахуванні на клітину-продуцент, знижувалась в усіх вікових групах тварин покоління, отриманого від самок і самців, які вживали алкоголь. Так, наприклад, у 1-місячних самок, попередники яких були алкоголізовані, продукція ІЛ-2, у перерахуванні на клітину-продуцент, була нижчою за одновіковий контроль на 28,6%, а у самців - на 20,0%. У 3-місячних самок і самців покоління, отриманого від алкоголізованих попередників, продукція ІЛ-2, у перерахуванні на клітину-продуцент, була нижчою за одновіковий контроль відповідно на 30,1% та 31,45, а в абсолютних значеннях вона також була нижчого від попередньої вікової групи. При розрахунках продукції ІЛ-2 на клітину-продуцент виявлено, що у 6-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, достовірно знижувалась як по відношенню до значень 3-місячних тварин, так і стосовно контролю, дорівнюючи при цьому відповідно 50,3 та 50,0%. Для 12-місячних самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, характерним було те, що продукція ІЛ-2, у перерахуванні на клітину-продуцент, була самою низькою серед аналогічних значень усіх вікових груп цього покоління і, стосовно одновікового контролю, відповідно дорівнювала 37,1 і 41,8%. У 24-місячних самок і самців покоління, попередники якого вживали тривалий час алкоголь, продукція ІЛ-2, у перерахуванні на клітину-продуцент, в абсолютних показниках посилювалась порівняно з аналогічними значеннями у тварин 3- і 6-місячних віку і, стосовно контролю, відповідно дорівнювала 73,1 та 74,5%.

Виходячи з наведених вище результатів досліджень ми дійшли висновку, що виявлені зміни продукції ІЛ-2 обумовлені не наявністю у цих тварин Т-клітинного дефіциту, переключенням з Тх1 – на Тх2-відповідь.

На підставі вищесказаного нами були проведені дослідження продукції ІЛ-4. внаслідок таких досліджень встановлено (табл. 4.9), спонтанна продукція ІЛ-4 у 1-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, переважала рівень одновікового контролю на 50,1%, а у самців цього покоління - на 40,2%. У 3-місячних самок та самців, отриманих від

алкоголізованих попередників, показники спонтанної продукції ІЛ-4 МНПК посилювалась відносно одновікового контролю відповідно на 60,7 та 53,8%, але по відношенню до аналогічних значень попередніх тварин вона була в абсолютних числах дещо нижчою. Для 6-місячних самок та самців, отриманих від алкоголізованих попередників, характерним було збільшення спонтанної продукції ІЛ-4 як по відношенню до її значень у 3-місячних тварин, так і контролю, і, стосовно останнього, відповідно дорівнювала 177,3 та 166,2%. Дослідження спонтанної продукції ІЛ-4 МНПК у 12-місячних самок і самців покоління, отриманого від тварин, що тривалий час вживали алкоголь, показали, що вона дещо знижувалась відносно тварин 6-місячного віку, але залишалась вищою за одновіковий контроль відносно на 35,6 та 26,3%. Спонтанна продукція ІЛ-4 МНПК у 24-місячних самок та самців, попередники яких були алкоголізовані, різко знижувалась як по відношенню до усіх попередніх вікових груп, так і контролю, і, стосовно останнього, відповідно дорівнювала 80,3 і 87,7%.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що у поколінні, отриманому від алкоголізованих тварин, спостерігалось посилення спонтанної продукції ІЛ-4 МНПК і виключення складала тільки 24-місячні, у яких спонтанна продукція ІЛ-4 МНПК була достовірно нижчою за контроль на 60,2%, а у самців цього покоління - на 150,4%.

Підчас досліджень індукованої продукції ІЛ-4 МНПК у 3-місячних самок, попередники яких тривалий час вживали алкоголь, встановлено, що вона переважала показники одновікового контролю на 70,3%, а у самців - на 66,4%. Слід підкреслити, що в абсолютних показниках індукована продукція ІЛ-4 МНПК була значно нижчою за показники 1-місячних самок і самців.

Проведені дослідження індукованої продукції ІЛ-4 МНПК встановлено, що у 6-місячних самок, отриманих від алкоголізованих попередників, вона була нижчою за контроль на 85,3% і у самців цього покоління - на 71,1%. В абсолютних значеннях індукована продукція ІЛ-4 МНПК у самців і самок цієї вікової групи була вищою за аналогічні показники 3-місячних тварин.

Індукована продукція ІЛ-4 у 12-місячних самок, попередники яких були алкоголізовані, переважала одновіковий контроль на 51,3%, а у самців - на 40,2%. Необхідно також зазначити, що показники індукованої продукції у 12-місячних самок і самців практично не відрізнялись від аналогічних значень у 6-місячних тварин. Характерною особливістю індукованої продукції ІЛ- у 24-місячних самок і самців було її різке зниження як по відношенню до її значень в усіх попередніх групах, так і стосовно одновікового контролю і була нижчою від останнього відповідно на 17,8 і 15,7%.

Дослідження циркулюючого у сироватці крові ІЛ-4 у 1-місячних самок та самців, отриманих від алкоголізованих попередників, показали, що його кількість зростала відносно контролю відповідно на 20,3 та 15,6%. У 3-місячних самок і самців, попередники яких були алкоголізовані, вміст циркулюючого ІЛ-4 у сироватці крові стосовно контролю відповідно дорівнював 130,4 і 125,8%. При цьому необхідно зазначити, що вміст ІЛ-4 у сироватці крові 3- і 6-місячних в абсолютних показниках не відрізнявся між собою. У 12-місячних самок і самців самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, вміст ІЛ-4 циркулюючого в сироватці крові переважав рівень контролю відповідно на 28,3 та 24,6%.

Вміст циркулюючого в сироватці крові 24-місячних самок і самців ІЛ-4 МНПК різко знижувався, порівняно з показниками одновікового контролю, відповідно на 17,8 та 15,7%. В абсолютних значеннях кількість ІЛ-4 у сироватці крові 12-місячних тварин була самою низькою порівняно з показниками усіх попередніх вікових груп цього покоління.

Розрахунки циркулюючого ІЛ-4 на клітину-продуцент показали, що особливих відмінностей між контролем і експериментальними показниками не було виявлено (табл. 4.10.).

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про те, що у поколінні тварин, отриманих від самців і самок, які перед спарюванням вживали алкоголь, спостерігались досить істотні відхилення функціонального стану цитокінової ланки імунітету порівняно з

аналогічними значеннями одновікового контролю. Останнє є свідченням того, що тривале вживання алкоголю самцями і самками негативно віддзеркалюється на здоров'ї їх поколінь.

Узагальнення до розділу 4.

У цьому розділі викладені результати дослідження процесів перекисного окислення ліпідів, активності антиоксидантних ферментів і уроканіази та продукції цитокінів у самок і самців різного віку, отриманих від алкоголізованих попередників. Внаслідок таких досліджень встановлено, що у самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, з віком спостерігалось збільшення вмісту дієнових кон'югатів, малонового диальдегіду у печінці та сироватці крові та мінімальні відхилення виявлені у 24-місячних тварин. Паралельно спостерігалось у печінці та еритроцитах крові зниження активності каталази та глутатіонтрансферази, що свідчило про порушення мембран гепатоцитів. Підтвердженням цього були результати дослідження активності уроканіази, які показали, що вона знижувалась у тканинах печінки і виявлялась у сироватці крові. Доведено, що посилення інтенсивності процесів ПОЛ супроводжувалось різким посиленням процесів продукції цитокінів ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-8, ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4.

Висловлено припущення, що тривале вживання алкоголю самками і самцями перед спарюванням призводить до експресії генів, які контролюють синтез цитокінів, що, очевидно, є причиною виникнення таких істотних змін їх продукції у поколінні, отриманого від цих тварин.

Результати цього розділу опубліковані в:

РОЗДІЛ 5

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

Алкогольна патологія печінки являє собою одну із найбільш важливих проблем сучасного суспільства та охорони здоров'я. Дослідження, які проводяться на тваринах, допомагають зрозуміти патогенез алкогольної хвороби печінки, хоча доказів які б підтверджували подібність цих механізмів у людини недостатньо. Без сумніву, останнє частково обумовлено недостатністю засобів для проведення наукових робіт у цій області. Успіхи у з'ясуванні основних ланок патогенезу цієї хвороби головним чином досягнуті за допомогою досліджень, які проводились на гризунах. Встановлено [], що алкоголь збільшує проникність для макромолекул, включаючи ендотоксини, які входять до складу клітинної стінки грам-негативних бактерій. Слід зауважити, що ендотоксемія спостерігалась в осіб тривалий час вживаючих алкоголь при наявності чи відсутності алкогольної патології печінки. Ендотоксин всмоктується у кишечнику і досягає печінки через систему воротньої вени, де він зв'язується з рецепторами на поверхні Купферовських клітин печінки. Це стимулює вивільнення реактивних оксидантів і цитокінів, здібних викликати пошкодження гепатоцитів і їх запалення. Докази ролі цих механізмів в основному були отримані під час досліджень, в яких модель примусової алкогोलізації мишей. На наш погляд використання цієї моделі не може виявити істинні зміни. У цілому ряді інших досліджень зроблено [] припущення про помітну роль окислювального стресу у патогенезі алкогольної хвороби печінки. Було визначено декілька джерел оксидантів додатково до Купферівських клітин, що стимулюються ендотоксином. Наприклад, метаболізм етанолу в алкогольдегідрогеназній реакції і мікросомального цитохрому P4502E1 здібний стимулювати вивільнення реактивних оксидантів у гепатоцитах і викликати запалення і некроз. Як свідчать результати таких досліджень [] ефект може бути безпосереднім або опосередкованим через вивільнення протизапальних цитокінів і/або через формування білкових субстратів, які можуть виступати

в ролі антигенів і викликати пошкоджуючу імунну відповідь. Під час обстежень сильноп'ючих пацієнтів [] були виявлені докази ролі імунної системи у патогенезі алкогольної хвороби, які свідчили про наявність антитіл до білкових субстратів – метаболітів етанолу та антигенів, включаючи і цитохром P4502E1. Ці субстрати були виявлені на поверхні гепатоцитів щурів, які вживали алкоголь. Більш того, імуноглобулін, що присутній у сироватці крові людей з алкогольною патологією печінки на думку деяких авторів [] може викликати антитіло – обумовлене пошкодження гепатоцитів. Отже, вищенаведені факти та аналіз літератури при її огляді свідчать про не зовсім повну деталізацію патологічних зрушень в імунній системі і, зокрема, її цитокінової ланки за умов хронічного алкоголізму.

У деяких роботах [] зроблено припущення, що алкогольна патологія печінки може мати генетично-детермінований компонент. Патогенетичні механізми викладені вище та результати огляду літератури вказують на наявність багаточисленних генів-кандидатів, які можуть пояснити індивідуальну схильність. Відзначено декілька позитивних зв'язків між поліморфізмом цих генів і ризиком розвитку захворювання. Але на жаль в доступній літературі залишаються не зовсім з'ясованими питання про особливості взаємодії процесів перекісного окислення ліпідів, антиоксидантної системи та органо-специфічним ферментом печінки з особливостями продукції цитокінів у тварин, які тривалий час вживали алкоголь та вплив останнього на нападників. Вирішенню саме цих проблем присвячені наші дослідження.

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, так і у сироватці крові. При цьому вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці та сироватці крові достовірно зростав стосовно однієїкової контролю ($P < 0,05$). Одночасно у печінці на крові відбувалось достовірне зниження активності каталази і

глутатіонтрансферази стосовно інтактних тварин. Такі зміни процесів утворення продуктів ПОЛ і активності антиоксидантних ферментів свідчили про зсування рівноваги в системі ПОЛ-АОС і розвитку пер оксидації у печінці, що в свою чергу, як відомо [], може призвести до деструктивних змін в гепатоцитах. Підтвердженням висловлених припущень були результати дослідження активності уроканіази – 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 уроканіази у тканинах печінки самок і самців, які вживали алкоголь достовірно знижувалась порівняно з контролем ($P < 0,05$). Одночасно активність ферменту виявлялась у сироватці крові, що за фізіологічних умов недопустимо []. Слід також підкреслити, що глибина виявлених зрушень досліджених процесів у сироватці та еритроцитах та 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 перебігає більш важко []. Є припущення, що останнє пов'язано з більш низькою концентрацією шлункової фракції ферменту алкогольдегідрогенази і через це до печінки жінок надходить більша кількість алкоголю [].

Таким чином, отримані результати досліджень та наліз з їх існуючими літературними даними можна зробити припущення, що тривале вживання алкоголю стимулює продукцію цитохрому P-450 внаслідок чого відбувається більш швидка елімінація етанолу, формуванню токсичних продуктів і активації перекісного окислення ліпідів. В свою чергу відбувається інактивація каталазної системи, яка окислює станок, і як відомо, її роль зростає при зловживанні алкоголем [].

Відомо [], що у формі реакції печінки на алкогольну ендотоксемію розвивається гіперфункція імунної системи. У зв'язку з цим нами проведені дослідження продукції цитокінів МНПК. В результаті таких досліджень

встановлено, що спонтанна і індукована продукція інтерлейкін-1 β (ІЛ-1 β) МНПК у статевозрілих самок і самців, які тривалий час вживали алкоголь, достовірно зростала порівняно з контролем ($P < 0,05$). Необхідно також підкреслити, що у алкоголізованих самок інтенсивність спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β була вищою ніж у самців. Паралельно з цим встановлено, що у алкоголізованих тварин зростала загальна кількість усіх субпопуляцій лімфоцитів. При перерахуванні спонтанної та індукованої продукції ІЛ-1 β була виявлена тенденція до посилення, але виявленні зміни не носили достовірного характеру, за виключенням спонтанної продукції у алкоголізованих самок. У сироватці крові ІЛ-1 β не виявлявся. Наведені факти свідчать про те, що зростання продукції ІЛ-1 β є ознакою посилення синтезу релізінг факторів та стимуляції продукції стероїдів [], які, як відомо, є одними із найбільш потужних імуносупресорів. З іншого боку, як відомо [], гіперпродукція ІЛ-1 β впливає на патогенез пошкодження печінки. Дослідження спонтанної та індукованої продукції ФНП- α МНПК крові показали, що статевозрілих самок і самців, які тривалий час вживали алкоголь, спостерігалось посилення першої і пригнічення другої. Паралельно з цим відбувалось збільшення ФНП- α у сироватці крові. Збільшення продукції і вмісту ФНП- α , який, як відомо [], індукує нейтрофіли до вивільнення ряду біологічно активних сполук. У зв'язку з цим 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.

В результаті досліджень продукції ІЛ-8 встановлено, що у статевозрілих самок і самців також виявляються істотні відхилення. Так спонтанна продукція ІЛ-8 у алкоголізованих самок переважала контроль більш як у 7 разів, а у самців – у 4,4 рази ($P < 0,05$). Індукована продукція ІЛ-8 у самок знаходилась на рівні контролю, а у самців була низчою від останнього. При перерахуванні спонтанної та індукованої продукції ІЛ-8 на

клітину-продуцент у алкоголізованих самок і самців у першому випадку різко зростала, а другої – знижувалась. Окрім цього спостерігалось різке збільшення вмісту ІЛ-8 у сироватці крові алкоголізованих самок і самців. Очевидно, що високий рівень ІЛ-8 у сироватці крові зв'язується зі своїм рецептором внаслідок чого виявляється відсутність відповіді на антиген []. Крім того відомо, ІЛ-8 у сукупності з ФНП- α порушують захват NA^+ -залежним транспортером жовчних кислот і секрецію солей жовчних кислот та органічних аніонів до жовчних каналців, що, в свою чергу, значно погіршує структурну організацію печінки []. Необхідно також зазначити, що виявлені зміни продукції ІЛ-8 були значно більшими у самок.

Дослідження спонтанної та індукованої продукції у самок і самців, що тривалий час вживали алкоголь, показало досить істотні відхилення від контролю. Так, спонтанна продукція ІЛ-6 у самок і самців різко посилювалась ($P < 0,05$), а індукована знижувалась. У сироватці крові також виявлялась підвищена кількість ІЛ-6. результати цих досліджень та літературні дані надають нам можливість припустити, що підвищені кількості ІЛ-6 посилюють деструктивні зміни у печінці [], так як цей цитокін стимулює синтез білків гострої фази: фібріногену, пантоглобіну, α_2 -мікроглобуліну та інших.

Для з'ясування стану Т-клітинного ростового фактору у алкоголізованих самок і самців нами проведені дослідження індукованої продукції ІЛ-2. внаслідок таких досліджень встановлено, що індукована продукція у алкоголізованих самок і самців різко знижувалась стосовно одновікового контролю ($P < 0,05$). У розрахунку індукованої продукції ІЛ-2 на клітину-продуцент у алкоголізованих самок і самців було встановлено її зниження. Ці факти є ознакою зниження захисних реакцій організму []. Проведені дослідження продукції ІЛ-4, який пригнічує продукцію ІЛ-2 Т-лімфоцитами, експресію α -ланцюга рецептора ІЛ-2 на Т-лімфоцитах і β -ланцюга на В-лімфоцитах []. Внаслідок цих досліджень встановлено, що спонтанна та індукована продукція ІЛ-4 у алкоголізованих самок і самців

була достовірно вища за одновіковий контроль ($P < 0,05$). Рівень циркулюючого у сироватці крові ІЛ-4 також переважав рівень контролю, а при перерахуванні на клітину-продуцент його кількість не мала достовірних відмінностей від контролю.

Отже, наведені вище факти підтверджують безсумнівну роль цитокінів у патогенезі алкогольної хвороби 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 надає змогу погодитися з думкою деяких авторів [] про провідну роль у розвитку цієї патології активності шлункової алкогольдегідрогенази.

Розглядаючи проблему алкогольної хвороби печінки необхідно підкреслити, що більшість фундаментальних досліджень з цього приводу є експериментальними, тому на наш погляд доцільним було б провести такі ж дослідження і у людей, що вживали тривалий час алкоголь.

Внаслідок проведених досліджень встановлено, що в осіб, які тривалий час (10 років і більше) вживали щоденно алкогольні напої, спостерігалось різке посилення утворення дієнових кон'югатів та маленового диальдегіду порівняно з одновіковим контролем ($P < 0,05$). Одночасно спостерігалось зниження активності каталази і глутатіонтрансферази відносно показників у донорів ($P < 0,05$). На тлі таких змін у системі ПОЛ-АОС у жінок та чоловіків у сироватці крові виявлялась активність уроканіази, що як відомо [] за фізіологічних умов є недопустимим фактом. Зазначені факти є ознакою розвитку оксидативного стресу внаслідок надмірного накопичення продуктів ПОЛ та низької активності антиоксидантних ферментів, що, очевидно, спричиняє деструктивні зміни у паренхімі печінки, підтвердженням останнього є поява активності урокалінази у сироватці крові. Необхідно також підкреслити, що більш істотні зміни цих процесів виявились у жінок.

На підставі експериментальних даних, отриманих нами та існуючих відомостей в літературі [] ми дійшли до припущення про можливість

модифікації функціонального стану цитокінової ланки імунітету у осіб, що вживали алкоголь на протязі більше 10 років. Проведені дослідження у жінок і чоловіків, які щоденно тривалий час вживали алкоголь, підтвердили висловлене вище припущення. Так, встановлено, що спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β МНПК у осіб, які тривалий час вживали алкоголь, достовірно зростала порівняно з одновіковими донорами ($P < 0,05$). Циркулюючий у сироватці крові ІЛ-1 β хронічних алкоголіків не виявлявся. У той же час встановлено, що спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β у алкоголізованих жінок та чоловіків у перерахуванні на клітину-продуцент посилювалась відносно значень у донорів. Отже наведені факти свідчать про наявність запальних процесів в організмі обстежених осіб. В той же час відсутність ІЛ-1 β у сироватці крові очевидно обумовлено двома факторами [.....]: наявністю розчинних форм рецептору ІЛ-1 β і/або наявністю антитіл до ІЛ-1 β та підвищеною продукцією МНПК рецепторного антагоніста РАІЛ, який конкурує з ІЛ-1 β за зв'язування з рецептором ІЛ-1 I-шого типу та інгібує аутокрину регуляцію МНПК, що продукуються ІЛ-1 β . Оскільки в літературі [] відводиться важлива роль ФНП- α у розвитку оксидативного стресу та апоптозу, то нами були поведені дослідження цього цитокіну у хронічних алкоголіків обох статей. Внаслідок таких досліджень встановлено, що спонтанна продукція ФНП- α достовірно зростала ($P < 0,05$), а індукована знижувалась ($P < 0,05$) відносно донорів. Спонтанна продукція ФНП- α у перерахуванні на клітину-продуцент практично не відрізнялась від контролю, а індукована була нижча ($P < 0,05$). Виявлене зниження МНПК продукували ФНП- α у відповідь на антигенний стимул, вагомо доводиться при з'ясуванні індексу стимуляції, який у жінок алкоголіків дорівнював 1,9 та у чоловіків - 3,1, що було достовірно нижчим ніж у донорів ($P < 0,05$). 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 даному випадку більш глибокі зрушення виникають у алкоголізованих жінок. Досить цікавими були результати дослідження продукції ІЛ-8, внаслідок яких встановлено, що спонтанна продукція у алкоголізованих жінок та чоловіків достовірно зростала стосовно контролю, а індукована – знижувалась ($P < 0,05$). В той же час розрахунки продукції ІЛ-8 на клітину-продуцент показали, що спонтанна та індукована продукція у жінок і чоловіків алкоголіків достовірно нижча за контроль ($P < 0,05$). Паралельно з цим відбувалось зростання ІЛ-8 у сироватці крові жінок і чоловіків. Враховуючи літературні дані [] 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 циркулюючий у сироватці крові ІЛ-8 у значних кількостях 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 алкогольною хворобою печінки 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 останнє не є протиріччям існуючим уявленням []. 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 відображаються на її функціональному стані у осіб з алкогольною хворобою цього органу. Для з'ясування питання про можливі зміни в Т-клітинному імунітеті в 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 ($P < 0,05$). Перерахування індукованої продукції на клітину-продуцент дозволило виявити достовірне її зниження у жінок і чоловіків. Ці факти, очевидно, є свідченням зниження функціональної здібності Т-лімфоцитів алкоголізованих чоловіків і жінок продукувати Т-клітинний ростовий фактор. Аналіз цих результатів та співставлень їх з літературними даними [] дозволяє нам стверджувати, що причиною цих змін являється не Т-клітинний дефіцит, а переключення з Тх1 – на Тх-2-відповідь у цих пацієнтів.

Отримані результати наших досліджень та співставлення їх з існуючими відомостями сучасної літератури [] дали нам підставу вважати за доцільне провести дослідження продукції ІЛ-4. такі дослідження надали змогу встановити, що спонтанна та індукована продукція ІЛ-4 МНПК достовірно посилювалась 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 12-лінооксигенази, 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 віддзеркалюванням швидкості формування у ній деструктивних процесів.

У цілому ряді робіт [] встановлено, що тривале вживання алкоголю перед спарюванням тварин та під час вагітності негативним чином віддзеркалюється на здоров'ї їх нащадків, сприяючи розвитку різних вад розвитку. Враховуючи ці факти нами були проведені дослідження процесів ПОЛ-АОС, активності антиоксидантних ферментів і уроканіази 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 дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці і сироватці крові достовірно переважала 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 дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду практично знаходився на рівні показників одновікового контролю. Паралельно з цим спостерігалось зниження активності антиоксидантних ферментів. Що стосується активності урокалінази, 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 кисень активних 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 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 переважала контроль, при цьому у сироватці крові цей цитокін не виявлявся. Спонтанна та індукована продукція ІЛ-1 β у

перерахуванні на клітину-продуцент знаходилась на рівні одновікового контролю. 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 досить істотно знижувалась. Кількість циркулюючого у сироватці крові ФНП- α також достовірно зростала порівняно з одновіковим контролем. Встановлено також, що спонтанна продукція ФНП- α при перерахуванні на клітину-продуцент не відрізнялась від контролю, а індукована достовірно знижувалась ($P < 0,05$). Враховуючи результати наших досліджень ми вважаємо, що такі зміни протизапальних цитокінів ІЛ-1 β і ФНП- α негативно впливають на функціональну активність печінки цих тварин, так як відомо [], що їх гіперпродукція індукує системні пошкоджуючі реакції. Внаслідок того, що ФНП- α індукує нейтрофіли до вивільнення біологічно активних сполук [] 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 TNF 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 знаходилась на рівні останнього. У сироватці крові ІЛ-8 не виявлявся. При перерахуванні спонтанної продукції ІЛ-8 на клітину-продуцент виявилось, що вона не відрізняється від контролю, тоді як індукована достовірно знижувалась. 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, так як відомо [], що для нього існує декілька однонуклеотидних заміщень та характерною є асоціація поліморфізму (-251/T) 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 даному випадку, очевидно, що хронічне вживання алкоголю попередниками сприяє змінам на генетичному рівні, так як відомо [], що в регуляторній ділянці гена ІЛ-6 (промоторна ділянка) знайдено поліморфний сайт (-174 G/C), в якому два алелі -G і C- визначають різкий контитуївний і індукційний таючий ефект “دوزи гена” в ряду генотипів CC/GC/GG висловлюється в підвищенні рівня його транскрипції [].

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. Встановлено також, що індукована продукція ІЛ-2 у перерахуванні на клітину-продуцент у 1-місячних самок і самців, попередники яких перед спарюванням вживали тривалий час алкоголь була достовірно нижчою за одновіковий контроль. Спонтанна та індукована продукція ІЛ-4 у самок і самців цього покоління була достовірно вищою 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 перерахуванні 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, спостерігався неухильний ріст 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 відзначились 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 внаслідок чого зростає кількість 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 [] і з іншого передчасного старіння цих тварин оскільки відомо [], що надлишкові кількості перекисних сполук є предикторами старіння. Отримані результати досліджень також свідчать про те, що надмірні кількості кисень реактивних сполук модифікують експресію генів цитокінів внаслідок чого спостерігаються відповідні зміни продукції останніх. Досить істотну роль у цих процесах відіграє глутатіонтрансферази, яка, як відомо [], відіграє одну із ключових ролей у забезпеченні резистентності клітин до продуктів ПОЛ, вільним радикалом і в запобіганні пошкодженням ДНК мікросомальна глутатіон-S-трансфераза тісно пов'язана з системою цитохрому P450 [], що є необхідною умовою для швидкою інактивації цито- і гепатотоксичних метаболітів. Відомо [], що в осіб з функціонально малоактивними формами лізоформами цього ферменту, які кодуються мутантними алелями гена частіше розвивається ураження печінки на тлі зловживання алкоголем. Встановлено [], що експресія генів глутатіон-S-трансфераз відбувається в самих різних, але особливо вона висока у печінці. Виходячи з цього можна думати, що у I-шому поколінні тварин, які отримані алкоголізованих самців і самок зниження активності глутатіонтрансферази являється кодування 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 що володіють протизапальною

дією володіють ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-4 []. Підтвердження вищесказаного були отримані нами результати досліджень які встановили, 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.

Таким чином, результати наших досліджень дозволяють висловити думку про те, що зловживання алкоголем батьками призводить до того, що ацетальдегід негативно впливає на гени, що контролюють синтез глутатіонтрансферази, цитокінів, що призводить до негативних змін у наступних поколіннях. У зв'язку з цими даними про значення цитокінів у розвитку алкогольної хвороби печінки у батьків, роль імунологічного компонента можна розглядати в контексті не тільки прогресування ХАП але і в плані можливості виникнення генетичної схильності до етанолу.

ВИСНОВКИ

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

1. Тривале вживання алкоголю самками і самцями статевозрілих щурів шляхом вільного вибору викликало достовірне збільшення вмісту дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду 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 глутатіонтрансферази в еритроцитах крові і печінці достовірно знижувалась відносно одновікового контролю. Паралельно з цим у печінці алкоголізованих самок і самців відбувалось зниження активності уроканіази, який є характерним тільки для печінки і в інших структурах вона за фізіологічних умов не виявляється. Дослідження сироватки крові показали наявність активності уроканіази у високих значеннях, що очевидно є ознакою деструктивних процесів у печінці. І в даному випадку більш глибокі зрушення виявлялись у самок.
3. У жінок і чоловіків, які понад 10 років щоденно вживали алкоголь, у сироватці крові вміст дієнових кон'югатів був вищим за рівень аналогічних показників донорів відповідно на 60,7 і 40,1%, а малонового диальдегіду на 75,6 і 61,7%. В абсолютних значеннях вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у сироватці крові достовірно переважав рівень чоловіків ($P < 0,05$).

4. Обстеження жінок і чоловіків, які щоденно на протязі понад 10 років вживали алкогольні напої показали, що активність каталази і глутатіонтрансферази 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 глутатіонтрансферази у жінок була нижчою. Крім цього у сироватці крові цих жінок і чоловіків виявлялась активність уроканінази, яка у жінок була вищою ніж у чоловіків більш як у 2 рази. Останнє є ознакою того, що у алкоголізованих жінок деструктивні процеси у печінці носили 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 підлягала досить істотним змінам, ступінь яких зростала від 1-місячно до 24-місячних тварин. Характерним 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 була у жінок.
6. У поколінні самок і самців, отриманих від алкоголізованих попередників, починаючи з 1- і 24-місяць, спостерігалось достовірне збільшення вмісту дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду у печінці та сироватці крові порівняно з цим відбувалось зниження активності каталази і глутатіонтрансферази 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 був зниженим.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.

1. Аккер Л.В. Течение беременности и исход родов у женщин, страдающих алкоголизмом // Вест. рос. ассоц. акушеров-гинекологов. – 2000. - №3. – С. 95-98.
2. Алексеева Д.Н. Особенности клинико-иммунобиохимических нарушений у больных алкоголизмом и возможности их коррекции // Актуал. пробл. интегральной медицины: Тр. науч.-практ. конф., посвящ. 25-летию науч. и творческого сотрудничества гос. Н-И испытательного ин-та военной медицины МО РФ. – Воронеж. – 2001. – С. 20-22.
3. Алкогольная болезнь. Интегральные аспекты патогенеза, клиники и диагностики / Э.И. Белобородова, Н.С. Тарасова, В.А., Бурковская, Е.В. Белобородова; Сибир. мед. ун-т. – Томск: НТЛ, 2003. – 220с.
4. Алкогольный холангит как вариант алкогольной болезни печени (Описание случая и обзор литературы) / В.Е. Сюткин, Ю.П. Грибунов, Д.Ю. Песков и др. // Терапевт. архив. – 2005. - №2. – С. 78-79.
5. Ашмарин И.П. Алкогольдегидрогеназа млекопитающих – объект молекулярной медицины. // Успехи биологической химии. – 2003. – №43. – С. 3-18.
6. Бабак О.Я. Клиническое значение системы фермента цитохром Р450 // Укр. терапевт. журн. – 2001. – Т. 3, №3. – С. 44-47.
7. Баев В.М. Анализ зависимости между употреблением алкоголя и реологическими свойствами крови у взрослых людей // Международн. мед. журн. – 2001. - №1. – С. 81-83.
8. Балахнина Е.С. К постановке вопроса о неотложных состояниях при бытовых формах алкоголизации. Клинико-иммунологическое

- исследование // Факторы клеточного и гуморального иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях: Тез. докл. 14 Рос. науч. конф. Челябинск, 2000. – Челябинск, 2000. – С. 10-12.
9. Бардина Л.Р., Сатановская В.И. Метаболическая адаптация к алкоголю у крыс, различающихся по предпочтению этанола воде // Вопр. мед. химии. – 1999. – Т. 45, №2. – С. 117-122.
 10. Белоус С.В. Современные аспекты патоморфоза алкоголизма // Междунар. мед. журн. – 2002. - №4. – С. 60-62.
 11. Биологические аспекты иммунологии хронической алкогольной интоксикации / Х.Л. Эдмонде, З.П. Гуревич, З.С. Никитина, И.А. Сытинский // Успехи совр. биологии. – 1985. – Т. 99, вып. 3. – С. 435-449.
 12. Биохимия и алкоголизм (IV): Типовые клинико-биохимические синдромы при хронической интоксикации / Рослый И.М., Абрамов С.В., Агаронов В.Р. и др. // Вопр. наркологии. – 2004. – №5. – С. 46-56.
 13. Биохимические показатели соединительной ткани в диагностике начальной стадии цирроза печени / В.И. Бычкова, Б.М. Смирнов, Л.В. Лесничук / Клин. лаб. диагностика. – 2003. - №1. – С. 10-14.
 14. Борисенко С.А., Толмачева Н.С., Ходорова Н.А. Проницаемость гематоэнцефалического барьера для некоторых нейромедиаторов при алкогольной интоксикации // Фармакологи экспериментального алкоголизма / НИИ фармакологии АМН СССР: Сб. трудов. – М.: ИФ, 1982. – С. 80-94.
 15. Брискин Б., Туманов В., Акопян В. Применение гепатосана у хирургических больных с алкогольным поражением печени // Врач. – 2001. - №10. – С. 20-24.
 16. Буеверов А.О. Иммунологические механизмы повреждения печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии. – 1998. – №5. – С. 18-21.
 17. Буеверов А.О. Урсодезоксихолевая кислота при алкогольной болезни печени: патогенетическое и клиническое обоснование применений //

- Клин. перспективи в гастроентерології, гепатології. – 2004. - №1. – С. 15-20.
18. Буеверов А.О., Маевская М.В., Ивашкина В.Т. Алкогольная болезнь печени // Рос. мед. журн. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 61-65.
 19. Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. – М.: Медицина, 1985. – 239с.
 20. Быкова А.А., Сединина Н.С. Иммунные и аутоиммунные эффекты этанола // Эксперим. и клин. фармакология. – 2002. – Т. 65, №6. – С. 60-63.
 21. Василенко А.М., Захарова Л.А. Цитокины в сочетанной регуляции боли и иммунитета. // Успехи соврем. биологии. – 2000. – Т. 120, №2. – С. 174-189.
 22. Вернигора А.Н., Генгин М.Т. Влияние этанола на активность растворимой и мембранно-связанной карбоксипептидазы Н в отделах головного мозга крыс при иммобилизационном стрессе // Вопросы мед. химии. – 1994. – Т. 40, №1. – С. 54-56.
 23. Ветлугина Т.П., Семке В.Я. Клиническая психонейроиммунология на современном этапе: Обзор. // Сиб. вестн. психиатрии и наркологии. – 2001. - №3. – С. 34-36.
 24. Виноградова С.В. Роль полиморфизма в развитии заболеваний печени // Сучасна гастроентерологія. – 2004. - № 5(19). – С. 15-20.
 25. Вірстюк Н.Г. Діагностичне значення розчинних рецепторів до інтерлейкіну-2 при хворобі печінки алкогольного походження // Лікар. справа. – 2004. - №3-4. – С. 39-42.
 26. Вірстюк Н.Г. Стан клітинного імунітету та цитокіновий профіль у хворих на хронічні гепатити // Практич. медицина. – 2002. - №3. – С. 57-61.
 27. Вірстюк Н.Г., Михайлик І.О., Каленська О.В. Морфологічні особливості змін тканини печінки на різних стадіях її розвитку // Галицький лікарський вісник. - 2003. – Т. 10, №2. – С. 41-43.

28. Власова Н.В. Особенности кинетики этанола в крови крыс при экспериментальном алкоголизме // Фармакология экспериментального алкоголизма / НИИ фармакологии АМН СССР: Сб. трудов. – М.: ИФ, 1982. – С. 119-123.
29. Влияние вирусов гепатита на продолжительность жизни больных алкогольным циррозом печени / М.В. Маевская, О.П. Шарофеева, А.В. Ведерникова, В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2004. – Т. 14, №2. – С. 22-28.
30. Влияние полиморфизма генов цитокинов семейства IL-1 на дисрегуляцию воспалительного ответа и эффективность цитокиновой иммунотерапии / Громова А.Ю., Тимчук Л.Э., Кузнецов Н.И. и др. // Мед. иммунология. – 2004. – Т. 6, №3-5. – С. 445-445.
31. Влияние пирогенала на иммунный статус и патологическое влечение к алкоголю у больных алкоголизмом / Гамалея Н.Б., Шостак О.А., Макарова Н.Е. и др. // Вопр. наркологии. – 2004. - №3. – С. 47-56.
32. Влияние природных комплексов биологически активных веществ на процессы восстановления функций печени при алкогольной интоксикации / Н.Ф. Кушнерова, С.Е. Фоменко, М.И. Положенцева, А.Е. Буланов // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т.41, №2. – С. 20-23.
33. Влияние различных методов учета результатов иммуноферментного анализа на эффективность иммунодиагностики алкогольной интоксикации / Гамалея Н.Б., Кузьмина Т.И., Шимановская Л.С. и др. // Вопр. наркологии. – 1999. - №4. – С. 38-42.
34. Влияние фитосбора «Наркофит» на течение экспериментального этанолного гепатита / Дашинамжилов Ж.Б., Найданов С.С., Диль А.А. и др. // Новости науки и техники. Сер. мед. алкогольная болезнь (ВИНИТИ). – 2000. - №10. – с. 14-16.
35. Влияние эссенциальных фосфолипидов на структурные и метаболические изменения в печени крыс при экспериментальном

- поражении / Буко В.У., Немкевич В.В., Мальцев А.Н. и др. // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1994. - №4. – С. 50-53.
36. Возианов А.Ф., Бутенко А.К., Зак К.П. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства. – К.: Наук. думка, 1998. – 313 с.
37. Гамалея Н.Б. Иммунодиагностика хронической алкогольной интоксикации // Иммунология. – 2003. - №6. – С. 30-36.
38. Галактионов В.Г. Иммунология. – М.: РИЦМЭК. – 2000. – 488 с.
39. Генгин М.Т., Вернигора А.Н. Влияние эмоционально-болевого стресса и этанола на карбокс и пептидазо-N-подобную активность в гипофизе и сыворотке крови крыс // Вопр. мед. химии. – 1994. – Т. 40, №1. – С. 52-54.
40. Гребенев А.Л., Хазанов А.И., Подымова С.Д. и др. Руководство по гастроэнтерологии. Т. 2. – Болезни печени и билиарной системы. – М.: Медицина, 1995. – 528 с.
41. Губергриц Н.Б. Хронические гепатиты и циррозы печени. Современная классификация, диагностика и лечение. – Донецк: ООО “Лебедь”, 2002. – 164с.
42. Губергриц Н.Б., Колкина В.Я. Клиническая эффективность антигомтоксического препарата Нереел в лечении хронических алкогольных гепатитов // Вест. неотложной и восстановит. медицины. – 2004. – Т. 5, №2. – С. 237-239.
43. Дамбинова С.А., Илюхина А.Ю., Илюхина В.А. Исследование уровня аутоантител к NMDA-рецепторам в крови здоровых лиц при длительном психоэмоциональном стрессе и больных хроническим алкоголизмом // Всерос. Конф. «Нейроиммунология», Москва, 12-13 окт. 1999. Тез. докл. – М., 1999. – С. 25-26.
44. Данные о существовании и локуса на первой хромосоме, обуславливающего предрасположенность к алкоголизму и эффективным расстройствам / Нюрнбергер ДЖ.И., Форауд Т., Флюри Л. и др. // Международ. мед. журн. – 2002, - №5. – С. 464-471.

45. Дашинамжилов Ж.Б., Диль А.Н., Николаев С.М. Гепатопротекторное действие наркофита при алкогольном гепатите // Фармация. – 2004. - №6. – С. 36-38.
46. Дей К. Алкогольная патология печени // Наркология. – 2002. - №4. – С. 21-23.
47. Демьянов А.В., Котов А.Ю. Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление. – 2003. - №3. – С. 20-25.
48. Динамика уровня белков острой фазы при вирусных поражениях печени. / Волчкова Е.В., Пак С.Г., Малов В.А., Умбертова К.Т. // Терапевт. арх. – 2000. – Т. 72, - №11. – С. 18-21.
49. Долматова Л.С., Ромашина В.В. Особенности изменения активности антиоксидантных ферментов в различных типах лейкоцитов крови у больных хроническим алкоголизмом // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2003. - №2. – С. 17-19.
50. Дрижак В.І., Андрейчин М.А., Вугляр Ю.В. Роль вірусів гепатитів В і С та алкоголізму в розвитку перебігу первинного раку печінки // Інфекційні хвороби. – 2004. - №4. – С. 10-14.
51. Дьяконова Т.В., Петруня А.М. Иммуные нарушения у пациентов с дистрофической патологией заднего отрезка глаза, страдающих хроническим алкоголизмом // Вестн. офтальмологии. – 2001. – Т. 117, №5. – С. 47-49.
52. Живаева Н.С. Особенности цитокинового статуса при хроническом панкреатите алкогольной и биллиарной этиологии // 6^й Международный Славяно-Балтийский научн. форум «Санкт-Петербург-Гастро 2004», Санкт-Петербург, 13-16 сент. 2004 г.: Тез. докл.
53. Загоренко Б.А. Иммуногенетическая предрасположенность к хроническому алкогольному панкреатиту // Врачеб. практика. – 2002. - №3. – С. 99-101.

54. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И. Вирусно-алкогольная природа хронических гепатитов и их коррекция // Укр. терапевт. журнал. – 2004. - №2. – С. 81-87.
55. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., Дергачева А.В. Эссенциальные фосфолипиды в гастроэнтерологии // Сучасна гастроэнтерология. – 2004. - № 2. – С. 51-56.
56. Зейтц Г. Алкогольная болезнь печени: Докл. [11 Междунар. сессии нац. школы гастроэнтерологов, гепатолов «Новый век гепатологии», Москва, 4-5 марта, 2000]. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии. – 2001. – Т. 11, №4. – С. 62-63.
57. Ивашкин В.Т. Клеточная и молекулярная биология воспаления печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. – 1998. - №5. – С. 13-18.
58. Ивашкин В.Т., Маммаев С.Н., Буеверов А.О. и др. Механизмы иммунного «ускользания» при вирусных гепатитах // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. – 2000. – Т. 10, №5. – С. 7-13.
59. Ивашкин В.Т., Шульпекова Ю.О. Неалкогольный стеатогепатит // Болезни органов пищеварения. – 2000. - №2. – С. 41-45.
60. Изменение морфологии форменных элементов крови под воздействием алкоголя: Обзор / Г.Н. Гороховская, В.В.Городецкий, Ю.А. Химич, Г.Г. Карнуга // ТОПМед. – 1997. – №3. – С.41-42.
61. Иммунодиагностика и иммунокоррекция в клинической практике / Под ред. И.Д. Столярова. – СПб: СОТИС, 1999. – 169с.
62. Иммунодиагностические критерии хронической алкогольной интоксикации у людей / Н.Б. Гамалея, Т.И. Кузьмина, Л.С. Шимановская, Е.В. Мартемьянова / Матер. Междунар. конф. психиатров, Москва, 16-18 февр., 1998г. – М., 1998. – С. 305-306.
63. Иммунологические аспекты алкоголизма / О.А. Васильева, В.Б. Черенько, Н.А. Бохан, В.Я. Семке // Мед. биол. и соц. аспекты наркологии. – М., 1997. – С. 15-17.

64. Калинин А.В. Алкогольная болезнь печени // Фарматека. – 2005. - №1. – С. 48-54.
65. Калинин А.В. Вопросы патогенеза, клиники и лечения алкогольной болезни печени (АБП): Обзор // Клин. перспективы в гастроэнтерол., гепатологии. – 2001. - №4. – С. 8-14.
66. Кампов-Полевой А.Б. Изучение особенностей формирования алкогольной мотивации у крыс // Фармакология экспериментального алкоголизма / НИИ фармакологии АМН СССР: СБ. трудов. – М.: ИФ, 1982. – С. 130-135.
67. Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунологическая активность // Клин. лабор. диагностика. – 1998. - №11. – С. 21-32.
68. Кислый Н.Д., Попов П.Н. Динамика калия у больных циррозом печени алкогольного генеза // Вестн. рос. ун-та дружбы народов. Сер. мед. – 2000. – №3. – С. 141-143.
69. Кислый Н.Д., Шемильханова Ш.М., Азевич С.А. Гепаторенальный синдром у больных циррозом печени алкогольного генеза. // Новости науки и техн. Сер. мед. вып. алкогольная болезнь / ВИНТИ. – 1999. - №7. – С. 1-8.
70. Клинико-морфологические особенности алкогольного стеатогепатита. (Сообщение первое) / Х.Х. Мансуров, Т.К., Мироджов, Ф.Х. Мансурова и др. // Клин. Медицина. – 2005. – Т.83, №4. – С. 37-40.
71. Коньшев В.А. Алкоголь: опасная польза. // Мед. помощь. – 2003. - №1. – С. 40-43.
72. Кузнецова Н.И. О перспективах изучения антителогенеза к тканевым антигенам при алкогольных заболеваниях: Обзор // Вопр. наркологии. – 1991. - №4. – С. 39-42.
73. Кузьменко В.А., Напханюк В.К. Стан глутатіонової протиперекисної системи тканин сім'яників щурів-самців першого покоління отриманих

- від алкоголізованих попередників // Вісн. морської медицини. – 2003. - №4. – С. 92-96.
74. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях. – К.: МОРИОН, 2002. – 160 с.
75. Латчем Р. Алкоголизм: ведение тяжелых больных // Леч. врач. – 1999. - №4. – С. 22-24.
76. Лукина Е.А. Система моноклеарных фагоцитов и биологические эффекты противовоспалительных цитокинов // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.. – 1998. – 35. – С. 7-13.
77. Логинов П.С., Блок Ю.Е. Хронические гепатиты и циррозы печени. – М.: Медицина, 1987. – 269 с.
78. Ляшенко В.А. Распознавание «своего» как необходимая функция иммунной системы // Мед. иммунол. – 2004. – Т. 6, № 3-5. С. 171-174.
79. Маевская М.В. Алкогольная болезнь печени // Клин. перспективы в гастроэнтерол., гепатол. - 2001. - №1. – С. 4-8.
80. Маевская М.В. Клинические варианты алкогольной болезни печени // Врач. – 2004. - №8. – С. 23-24.
81. Маевская М.В. Клинические особенности алкогольно-вирусных поражений печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2004. – №2. – С. 17-21.
82. Маевская М.В., Буеверов А.О. Старые и новые подходы к лечению алкогольной болезни печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2003. – Т. 13, №6. – С. 65-68.
83. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита: Пер.с нем. / Научн. ред. А.А. Шептулин. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 423 с.
84. Макаров В.К. Липидный спектр сыворотки крови у больных алкоголизмом, носителей HbsAg // Тер. архив. – 2002. - №12. – С. 80-82.

85. Макаров В.К. Определение уровня сывороточных иммуноглобулинов как способ оценки иммунореактивности у больных алкоголизмом – носителей HbsAg // Гигиена и санитария. – 2002. - №1. – С. 79-79.
86. Мамардашвили А.Ф. Биохимические детерминанты дифференциации течения хронического алкоголизма // Алкогольная болезнь: Реф. сб. сер. медицина. – 2003. - №1.: Реф. 03.01-04Т6.65.
87. Масевич Ц.Г., Ермолаева Л.Г. Фармакотерапия хронических диффузных заболеваний печени // Гастробюллетень. – 2001. - № 4. – С. 8-11.
88. Махов В.М. Хронический алкогольный панкреатит: имеются ли основания для выделения его в отдельную рубрику? // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2000. - № 5. – С. 76-79.
89. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии: Руководство в 2-х томах / Под ред. Ю.М. Комарова. – М.: Медицина, 2000. – Т.1: Теоретическая статистика. – 412 с.
90. Метаболизм этанола в организме // Билибин Д.П. Дворников В.Е., Патофизиология алкогольной болезни и наркомании. – М. Изд-во ун-та дружбы народов, 1991. – С. 22-29.
91. Мороз Л.В. Рівень цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та нітратів і нітритів у плазмі крові хворих на вірусні гепатити та цироз печінки // Сучасна гастроентерол. – 2001. - №1. – С. 66-68.
92. Морфоднеситометрическая оценка ферментативного статуса лимфоцитов при исследовании патогенеза хронического алкоголизма / А.И. Альбрант, С.Г. Кадричева, А.А. Савченко, Е.В. Смолина // Клин. лабор. диагностика. – 2000. - №12. – С. 35-39.
93. Морфофункциональные изменения органов гепатопанкреатобилиарной системы при экспериментальной дислипидемии / Дибиров А.Д., Петухов В.А., Сон Д.А., Брюшков А.Ю. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 130, №7. – С. 45-51.

94. Мухин Н., Лопаткина Т., Берневич Э., Тимошкина Е. Острый алкогольный гепатит на фоне алкогольного цирроза печени и печеночной энцефалопатии // Врач. – 2001. - №3. – С. 17-20.
95. Нарушения в системе клеточного иммунитета у больных алкоголизмом и перспективы их коррекции с помощью иммуномодулятора тактивина / Гамалея Н.Б., Ульянова Л.И., Даренский И.Д. и др. // Вопр. наркологии. – 2000. - №4. – С. 54-60.
96. Невойт Г.В. Оцінка активності аргінази та орнітиндекарбоксилази сироватки крові хворих на алкогольну хворобу печінки в динаміці комплексного патогенетичного лікування // Віст. наук. досліджень. – 2003. - №4. – С. 26-28.
97. Нейко Є.М., Александрук О.Д., Островський М.М. Фізіологія цитокінів // Галицький лікар. вісн. – 2000. – Т. 7, №4. – С. 153-160.
98. Нейромодуляторы катехоламинов при алкоголизме / И.П. Анохина, И.В. Маньковская, К.В. Машилов, Е.В. Кудинова // Фармакология экспериментального алкоголизма / НИИ фармакологии АМН СССР: Сб. трудов. – М.: ИФ, 1982. – С. 42-53.
99. Ногаллер А.М. Иммунологические методы диагностики заболеваний печени // Врач. – 1996. - №5. – С. 9-10.
100. Носик Н.Н. Цитокины при вирусных инфекциях // Вірусологія. – 2000. - №9. – С. 4-9.
101. Образование аутоантител к алкогольдегидрогеназе при длительной алкоголизации / Кушнир Е.А., Данилова Р.А., Обухова М.Ф. и др. // Иммунология. – 2004. - №4. – С. 216-218.
102. Огурцов П.П., Мазурчик Н.В., Тарасова О.И. Гепаторенальный синдром при остром алкогольном гепатите // Алкогольная болезнь: Реф. сб. – 2004. - №12. – С. 19-21.
103. Острый алкогольный гепатит на фоне алкогольного цирроза печени и печеночной энцефалопатии / Мухин Н., Лопаткина Т., Берневич Э. и др. // Врач. – 2001. - №3. – С. 17-20.

104. Пауков В.С., Беляева Н.Ю., Воронина Т.М. Алкоголизм и алкогольная болезнь. // Терапевт. арх. – 2001. – Т. 73, №2. – С. 65-67.
105. Переяслав А.А., Уклін С.М., Вацеба Р.Є. Біологічні властивості інтерлейкіну-8: Огляд літератури // Лікарська справа. – 1999. - №7-8. – С. 33-38.
106. Петри А, Сэбин К. Наглядная статистика в медицине / Пер. с англ. В.Леонова. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 114 с.
107. Петруня А.М., Скалыга И.М. Состояние микроциркуляции и гуморального иммунитета у больных с алкогольными гепатопатиями // Врачеб. дело (Лікар. справа). – 1997. - №5. – С. 148-150.
108. Пехташев С.Г. Некоторые результаты инструментального обследования больных с острым алкогольным гепатитом: Докл. [6 Рос. конф. «Гепатология сегодня», Москва, 20-23 марта, 2001] // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктологии. – 2001. – Т. 11, №1, прил. №12. – С. 37.
109. Пехташев С.Г., Барсов М.И. Возможности диагностики исхода острого алкогольного гепатита на догоспитальном этапе: Докл. [6 Рос. конф. «Гепатология сегодня», Москва, 20-23 марта, 2001] // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктологии. – 2001. – Т. 11, №1, прил. №12. – С. 37.
110. Плещитый К.Д. Алкоголизм и иммунитет: Обзор // Новости науки и техники. Сер. Медицина. Алкогольная болезнь: Реф. сб. – 1997. - №6. – с. I-XIII.
111. Подымова С.Д. Алкогольная болезнь печени: механизмы прогрессирования, патогенетическая терапия // Леч. врач. – 2001. - №5-6. – С. 21-23.
112. Подымова С.Д. Болезни печени. – М.: Медицина, 1998. – 701 с.
113. Подымова С.Д. Механизмы алкогольного повреждения печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1998. - №5. – С. 21-25.

114. Подымова С.Д. Печеночная энцефалопатия // Русск. мед. журн. – 1997. – Т. 5. - №3. – С. 140-148.
115. Показатели иммунитета у больных алкоголизмом, осложненным вирусными гепатитами В и С, и влияние на них иммуномодулятора пирогенала / Гамалея Н.Б., Шостак О.А., Макарова Н.Е. и др. // Вопр. наркологии. – 2004. - №4. – С. 57-69.
116. Полиморфизм генов алкогольдегидрогеназ АДН1В и АДН7 в русских популяциях сибирского региона / А.В. Марусин, В.А. Степанов, М.Г. Спиридонова, В.П. Пузырев // Молекулярная биология. – 2004. – Т. 38, 34. – С. 625-631.
117. Пострелко В.М., Коновалов О.Г. Деякі патопсихологічні особливості нервово-психічних розладів у ліквідаторів Чорнобильської катастрофи з психічними порушеннями, які страждають на синдром залежності від алкоголю // Вісн. наук. досліджень. – 2003. – №3. – С. 62-63.
118. Применение морфометрии печени при дифференциальной диагностике хронических алкогольных и наркотических интоксикаций / Ю.И. Пиголкин, И.Н. Богомолова, Д.В. Богомолов, А.Х. Аманмурадов // Суд.-мед. экспертиза. – 2002. – Т. 45, №1. – С. 21-24.
119. Пронько П.С., Кузьмич А.Б., Абакулов Г.З. Влияние алкогольной интоксикации и ингибиторов алкогольдегидрогеназы на перекисное окисление липидов в печени крыс // Укр. біохім. журн. – 1999. – Т 71, №4. – С 79-83.
120. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA. – М.: Медиа-Сфера, 2002. – 312 с.
121. Регуляция воспаления и фиброза печени цитокинами при её хронических поражениях / Маммаев С.Н., Лукина Е.А., Шутьпекова Ю.О. и др. // Клин. лабор. диагностика. – 2001. - №12. – С. 37-39.
122. Родонежская Е. Алкогольная болезнь печени // Гепатология. – 2004. - №4. – С. 23-26.

123. Ройт А., Бростоф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
124. Роль перекисного окисления липидов в механизме пролиферации фиброзной ткани печени при экспериментальном хроническом гепатите / А.И. Венгеровский, Н.О. Батурина, В.С. Чучалин, А.С. Саратиков // Пат. физ. и эксперим. терапия. – 1996. – №2. – С. 37-39
125. Савченко Л.М. О своевременной диагностике и лечении поражений печени и поджелудочной железы при алкоголизме и эффективности противоалкогольной терапии // Пробл. соврем. наркологии и психиатрии в России и за рубежом. Теория и практика. Обмен опытом: Респ. Сб. науч. тр. Рос. гос. мед. ун-т. – М., 1999. – С. 148-152.
126. Селевич М.И., Лелевич В.В. Влияние острой алкогольной и ацетальдегидной интоксикации на метаболизм липидов в печени крыс // Укр. біохім. журн. – 1999. - №1. – С. 95-97.
127. Серов В.В. Морфологическая верификация хронических вирусных и алкогольного гепатитов // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 1998. - №5. – С. 26-28.
128. Симбирцев А.С. Роль цитокинов в регуляции физиологических функции иммунной системы // Физиология и патология иммунной системы. – 2004. - №10. – С. 3-10.
129. Система цитокинов у больных хроническими диффузными заболеваниями печени / Ивашкин В.Т., Мамаев С.Н., Лукина Е.А. и др. // Иммунология. – 2001. - №1. – С. 46-49.
130. Системный и локальный иммунный ответ у больных с алкогольным циррозом печени в сочетании с инфекцией вирусом гепатита С (ВГС) / Коларски В., Петрова Д., Наумова Е. И др. // Алкогольная болезнь: Реф. сб. сер. Медицина. – 2001. - №10. – С. 1-9, Реф. 01.10-04Т6.60
131. Системы ПОЛ и биотрансформации этанола в печени как маркеры предрасположенности к гепатотоксичности этанола / Бушма М.И.,

- Амбрушкевич Ю.Г., Зиматкин С.М. и др. // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 2002. – Т 134, №12. – С. 693-696.
132. Скалыга И.М., Петруня А.М. Коррекция иммунных и микроциркулярных нарушений у больных хроническим гепатитом алкогольной и вирусной этиологии // Врачеб. дело (Лікар. справа). – 1998. - №1. – С. 145-148.
133. Скрипник І.м., Невоїт Г.В. Обґрунтування застосування глутаргіну як засобу патогенетичної терапії алкогольної хвороби печінки // Вісн. наук. досліджень. – 2004. - №1. – С. 82-84.
134. Собчак Д.М. Показатели иммунитета у больных хроническим гепатитом С при различной гистологической активности // Клин. медицина. – 2004. - №4. – С. 49-52.
135. Содержание противовоспалительных цитокинов и факторов роста в сыворотке крови больных хроническими вирусными гепатитами и циррозом печени / Маммаев С.Н., Шульпекова Ю.О., Левина А.А. и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2000. - №5. – С. 30-34.
136. Степаненко Т.І. Клінічні особливості хронічного алкогольного гепатиту у мешканців несприятливого регіону // Укр. мед. альманах. – 2003. - . 6, №6 (додаток). – С. 37-38.
137. Субботина Т.И. Состояние ультраструктуры гепатоцитов при желчекаменной болезни у лиц, страдающих алкоголизмом // Вестн. новых мед. технологий. – 1998. – Т. 5, №2. – С. 70-71.
138. Сюткин В.Е., Лопатки на Т.Н., Попова И.В. Факторы риска прогрессирования поражения печени при хроническом гепатите вирусной этиологии // Кремлевская медицина. – 2000. - №1. – С. 40-44.
139. Тананко-Найш М.М. Влияние минеральной воды «Беловодская» на клинико-биохимические показатели у больных хроническим алкоголизмом и наличием патологии печени // Укр. мед. альманах. – 2004. – Т. 7, №3. – С. 122-123.

- 140.Танащук Е.Л., Секамова С.М., Серов В.В., Попова И.В. Хронический вирусный гепатит и алкогольная печень: клинико-морфологические корреляции // Арх. Патологии. – 2000. - №3. – С. 37-42.
- 141.Тарасова Н.С., Белобородова Э.И. Иммунологическая характеристика циркулирующих иммунных комплексов при заболеваниях почек у больных хроническим алкоголизмом // Терапевт. архив. – 1998. - №12. С. 61-63.
- 142.Тарасова Н.С., Белобородова Э.И. Иммунологические особенности поражения почек при хроническом алкоголизме // Клин. медицина. – 2001. – Т. 79, №5. – С. 45-47.
- 143.Топорков А.С. Применение эссенциальных фосфолипидов в терапии алкогольной болезни печени // Рус. мед. журн. – 2003. – Т 11, №14. – С. 836-838.
- 144.Травенко Е.Н. Трансформация моноаминоксидаз печени как показатель хронической алкоголизации // Правовые и организационные вопр. судеб. медицины и экспертной практики: Сб. науч. работ. Киров. гос. мед. ин-т. – Киров, 1997. – Сю. 121-125.
- 145.Фадеев Г.Д. Алкогольная болезнь печени: современные взгляды на патогенез, диагностику и лечение // Укр. терапевт. журн. – 2001. – Т. 3, №3. – С. 19-23.
- 146.Фрейдлин И.С. Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети // Иммунология. – 1995. - № 3. – С. 10-14.
- 147.Функционально-морфологические особенности алкоголь обусловленной патологии в зависимости от характера интоксикации и коррекции ноотропилем в эксперименте / Сидоров П.И., Громова Л.Е., Соловьев А.Г. и др. // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2000. - №3. – С. 17-19.
- 148.Хазанов А.И. Алкогольная болезнь печени // Врач. – 2002. - №10. – С. 5-6.

149. Хазанов А.И. Алкогольный и неалкогольный стеатогепатит: Обзор // Рос. мед. вести. – 2001. – Т. 6, №3. – С. 38-41.
150. Хазанов А.И. Важная проблема современности – алкогольная болезнь печени // Рос. мед. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2003. - № 2. – С. 13-19.
151. Хазанов А.И. Возможности прогрессирования алкогольного и неалкогольного стеатогепатита в цирроз печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2005. – Т. 15, №2. – С. 26-32.
152. Хазанов А.И. Из полувекового опыта наблюдения за больными циррозом печени. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопрокт. – 1998. – Т.8. - № 2. – С. 50-56.
153. Хазанов А.И. Клинические аспекты вирусных и алкогольных заболеваний печени // Рос. мед. вести. – 2000. - № 1. – С. 4-11.
154. Хазанов А.И. Первичный рак печени и цирроз печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1999. – Т. 9. № 1. – С. 83-88.
155. Хазанов А.И. Современные проблемы вирусных и алкогольных болезней печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2003. - № 2. – С. 6-15.
156. Хазанов А.И., Васильев А.П., Пехташев С.Г. и др. Значение основных и добавочных этиологических факторов в развитии HCV- и HBV-циррозов печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2001. – Т. 11, №4. – С. 8-11.
157. Хазанов А.И., Васильев А.П., Родин Ю.А. и др. Исходы острого вирусного гепатита, цирроза печени и цирроза-рака печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1995. – Т.5. – С. 10-15.
158. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. М.: ВИНТИ РАН. – 2001. – 223 с.
159. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии // Иммунология. – 2001. - №4. – С. 4-6.

160. Хворостинка В.Н., Цивенко О.И., Колесникова Е.В. Клинико-иммунологические нарушения при алкогольной болезни печени // Лаб. диагностика. – 2004. - №1. – С. 31-34.
161. Хронический вирусный гепатит и алкогольная печень: клинимоρφологические корреляции / Е.Л. Танащук, С.М. Секамова, В.В. Серов, И.В. Попова / Архив патологии. – Архив патологии. – 2000. - №3. – С. 37-42.
162. Хронические вирусные гепатиты на фоне алкоголизма и наркомании у больных туберкулезом / Э. Вашакидзе, Л. Вашакидзе, Т. Гегешидзе, Т. Рухадзе // Тбилис. Гос. мед. ун-т: Сб. науч. тр. – 2001. – Т. 37, - С. 191-194.
163. Хухліна О.С. Зміни показників сполучної тканини у хворих на стеатогепатит алкогольного і неалкогольного генезу та їх корекція глутаргіном // Лікар. справа. – 2004. - №7. – С. 25-28.
164. Цитокин-опосредованные механизмы системной иммуносупрессии / Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А. и др. // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, №1. – С. 38.
165. Цитокины при хронических вирусных гепатитах / Новицкий В.В., Белобородова Е.В., Наследникова И.О. и др. // Материалы II всемирного конгресса по иммунопатологии и аллергии. – Москва, Россия. – 2004. - С. 112-113
166. Шангарева З.А., Викторова Т.В. Влияние генетических и внешнесредовых факторов на формирование алкогольной болезни печени: Обзор // Мед. генетика. – 2004. – Т. 3, №5. – С. 210-219.
167. Шаповалов К.А. Влияние глутаргина на клинимо-биохимические показатели при патологии печени у больных с алкогольной зависимостью // Укр. мед. альманах. – 2003. – Т. 6, №5. – С. 189-190.
168. Шаповалов К.А. Влияние глутаргина на систему глутатиона и уровень витаминов с антиоксидантными свойствами при патологии печени у

- больных, злоупотребляющих алкоголем // Укр. мед. альманах. – 2004. – Т. 7, №1. – С. 194-195.
169. Шаповалов К.А. Вплив глутаргіну та еобісолу на функціональний стан печінки у хворих з хронічною алкогольною інтоксикацією // Укр. мед. альманах. – 2004. – Т. 7, №2. – С. 178-179.
170. Шаповалов К.А. Вплив холенорму на показники перекисного окислення ліпідів при гепатиті алкогольного генезу // Укр. мед. альманах – 2004. – Т. 7, №4. – С. 178-179.
171. Шерлок Ш., Дули Дж. Болезни печени и билиарной системы: Пер с англ. – 9-е изд. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 900 с.
172. Шипулин В.П. Алкогольная болезнь печени // Лікув. та діагностика. – 2003. - №1. – С. 39-45.
173. Щичкин В.П. Патогенетическое значение цитокинов и перспектив цитокиновой и антицитокиновой терапии // Иммунология. – 1998. - №1. – С. 9-12.
174. Ярылин А.А. / Основы иммунологии // М.: Медицина, 1999. - 607 с.
175. Ярылин А.А. Симбиотические взаимоотношения клеток иммунной системы // Иммунология. – 2001. - №4. – С. 16-21.
176. Ярылин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии: Обзор // Иммунология. – 1998. - №3. – С. 7-13.
177. Abittan Ch., Lieber Ch. Alcoholic liver disease. Clin. Persped. In Gastroenterol. – 1999. – Sept. – Oct. – P. 257-263.
178. Afford S.C., Ahmed-Choudhury J., Randhawa S. et al. CD40 activation-induced, Fas-dependent apoptosis and NF-kappaB/AP-1 signaling in human intrahepatic biliary epithelial cells. FASEB J. 2001; 15(13): 2345-2354.
179. Akbar S.M., Yamamoto K., Moyakawa H. et al. Peripheral blood T-cell responses to pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: role of antigen-presenting dendritic cells. Eur. J. Clin. Invest. 2001; 31(7); 639-646.

180. Alcohol toxicity of T cell-mediated immunity in the aging population / F. Chiappelli, M.A. Kung, P. Villanueva, T. Ong // *Alcologia* . – 1997. – Vol. 9, №2. – P. 81-93.
181. Amato M/ Mechanisms of bilirubin toxicity // *Europ. J. Pediatric*. – 1995.- Vol. 154, №9, suppl. 4. – P. – 54-59.
182. Andus T., Holstege A. Cytokines and the liver in health and disease. Effect on liver metabolism and fibrogenesis // *Acta Gastroenterol. Belg.* – 1994 - . Vol. – 57, №3-4. – P. 236-244.
183. Balkwill F. Cytokine amplification and inhibition of immune and inflammatory responses // *J. Viral Hepatitis*. – 1997. - № 4, suppl, 2. – P. 6-15.
184. Bell H., Tailaksen G., Sjahel M. et al. Serum carbohydrate-deficient Transferrin as a marker of alcohol consumption in patients with chronic liver disease // *Alcoholism Clin. Exp. Res.* – 1993. – Vol. 17. – P. 246-252.
185. Bettini R., Gorini M. Use of ursodeoxycholic acid combined with silymarin in the treatment of chronic ethyl-toxic hepatopathy // *Clin. Ther.* – 2002. Vol. 153. – P. 305-307.
186. Bode Ch. Role of Gut-derived bacterial toxins in the development of alcohol-induced liver disease in man // Congress short report Falk Symposium N 100, Freiburg (Germany), 1997. – P. 36.
187. Boyer J.L., Blum H.E., Maier K.P. et al. Liver Cirrhosis and its Development. – Dordrecht/Boston/London, 2000. – 354 p.
188. Budec M., Milicevic Z., Koko V. Stereological study of rat spleen following acute ethanol treatment // *Indian J. Exp. Biol.* – 2000. – Vol. 38, №5. – P. 462-466.
189. Clot P., Bellomo G., Tabone M. et al. // *Gastroenterology*. – 1995. – Vol. 108. – P. 201-207.
190. Czaja A.J. Autoimmune liver disease // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 1999. – Vol. 15. – P. 240-248.

191. Czaja A.J., Carpenter H.A., Santrach P.J., Breannan Moore S. Immunological features and HLA associations in chronic viral hepatitis // *Gastroenterology*. – 1995. – Vol. 108. – P. 157-164.
192. Czaja A.J., Strettel M.D.J., Thomson L.J. et al. Associations between alleles of the major histocompatibility complex and type 1 autoimmune hepatitis // *Hepatology*. – 1997. – Vol. 25. – P. 317-324.
193. Dancyger Y. Alkoholische Hepatitis – Klinik – Prognose – Therapie // *Notab med.* – 2001. – Bd. 31, №1. – S. 14-15.
194. Dai Z., Li Q., Wang Y., Gao G., Diggs L.S., Tellides G., Lakkis F.G. / CD4+ regulatory T cells suppress allograft rejection mediated by memory CD8+ CD25+ T-cells via a CD30-dependent mechanism // *J. Clin. Invest.* 2004, 113 (2): 310
195. Desmet V.J. Histological classification of chronic hepatitis / *Acta Gastroenterol. Belgica*. – 1997. – Vol. 60, №4. – P. 259-267.
196. Deviere J., Content J., Denys C. et al. Excessive in-vitro bacterial polysaccharide induced production of monokine in cirrhosis // *Hepatology*. – 1990. – № 11. – P. 628.
197. Dicosopoulos N., Wegenka U., Kroger A., Hauser H., Schirmbeck R., Reimann J. / Recently primed CD8+ T cells entering the liver induce hepatocytes to interact with naïve CD8+ T-cells in the mouse // *Hepatology*. 2004, 39, (5):1256.
198. Fried M.W. The Liver in Systemic Illness // *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Eds. D. Zakim, T.D. Boyer. Third Edition. – Philadelphia, London, Toronto, Tokyo. – 1996. – Vol. 2. – P. 1706-1726.
199. Friedman S.L. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis // *Liver Cirrhosis and its Development: Proceeding of the Falk Symposium No 115*. – Basel, 1999. – P. 15-17.
200. Fromenty B., Grimbirt S., Mansouri A. et al. Hepatic mitochondrial DNA deletion in alcoholics: Association with microvesicular steatosis // *Gastroenterology*. – 1995. – Vol. 108. – P. 193-200.

201. Gavin S. Oxford Handbook of Clinical Immunology. – Oxford, 1999. – 240 p.
202. Gonzales-Peralta P.P., Davis G.L., Lau J.Y.N. // J. Hepatol. – 1994. – Vol. 21. – P. 255-259.
203. Gordon H. Detection of alcoholic liver disease.: Rev. // World J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 7, №3. – P. 297-302.
204. Hansen J., Cherwitz D.I., Allen J.I. The role of tumor necrosis factor-alpha in acute endotoxin-induced hepatotoxicity in ethanol-fed rats // Hepatology. – 1994. – Vol. 20. – P. 461.
205. Harris D.R., Gonin R., Alter H.J. et al. The relationship of acute transfusion-associated hepatitis to the development of cirrhosis in the presence of alcohol abuse // Ann. Intern. Med. – 2001. - Vol. 134. – P. 120-124.
206. Henry J.A., Moloney C., Rivas C., Goldin R.D. Increase in alcohol related deaths: is hepatitis C a factor? J. clin. Pathol. – 2002. – Vol. 55, № 9. - P. 120-124.
207. Hill D.B., Marsano L.S., McClain C.J. Increased plasma interleukin 8 concentration in alcoholic hepatitis // Hepatology. – 1993. – Vol. 18. – P. 576.
208. Hoffman R., Grewe M., Estler H. Et al. Regulation of tumor necrosis factor- α -mRNA synthesizing cells in rat liver during experimental endotoxemia // J. Hepatol. – 1994. – Vol. – 20. – P. 122.
209. Immunological parameters of alcoholics delirium / Agarcov A.P., Andreev S.M., Ladshina J.M. et al. // Biol. Psychiat. – 1997. – Vol. 42, №1, Suppl. – P. 32s- 33s.
210. Janeway C.A., Traverly P., Walpot M. Carpa J.D. / Immunology. The immune system in health and disease. London, 1999, 735 p.
211. Kenneth J.S., Nicolas W.L., Lisa C. Et. Al. Cytokines and the liver // J. Hepatology. – 1997. – Vol. 27. – P. 1120-1132.
212. Kim Jung-Hoon Effect of biphenyl dimethyl dicarboxylate on the cellular and nonspecific immunotoxicity by ethanol in mice // Biol. And Pharm. Bull. – 2000. – Vol. 23, №10. – P. 1206-1211.

213. Kuntz E., Kuntz H.D. Hepatology, principles and practice –Heidelberg: Springer-Verlag, 2002. – P. 852 p.
214. Kupari M., Koskinen P. Alcohol, cardiac arrhythmias and sudden death // Novartis Found Symp. – 1998. – Vol. 216. – P. 68-79.
215. Larkin J., Clayton M.M., Liu j., Feitelson M.A. Chronic ethanol consumption stimulates hepatitis Bvirus gene expression and replication in transgenic mice // Hepatology. – 2001. - Vol. 34 (suppl. 1). – P. 792-797.
216. Leiber C.S. Alcohol and liver // Gastroenterol. – 1994. – Vol. 106. – 1085-1105.
217. Leiber C.S. Alcohol liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatment // J. Hepatol. - 2000. – Vol. 32. - Suppl. – P. 113-128.
218. Lonjon J., Hezode D., Rouclot-Thoraval F. et al. // J. Hepatol. – 1998. – Vol. 28. – Suppl. 1. – P. 55.
219. Lukivskaya O.Y., Maskevich A.A., Buko V.U. Effect of ursodeoxycholic acid on prostaglandin metabolism and microsomal membranes in alcoholic fatty liver // Alcohol. – 2001. – Vol. 25. – P. 99-105.
220. Maher J.J. Treatment of alcoholic hepatitis // J. Gastroenterol., Hepatology. – 2002. – Vol. 17, №4. – P. 448-455.
221. McClain C.J., Hill D.B., Schmidt J., Diehl A.M. Cytokines and alcoholic liver disease // Semin. Liver Dis. – 1993. – Vol. 13. – P. 170.
222. McCulloch A/J/. O/ Connor J/F/B/ Alcoholic liver disease: proposed recommendations for the American College of Gastroenterology // Am/ J/ Gastroenterol. – 1998. – Vol. 93. – P. 2022-2036/
223. McFarlane J.G. Autoantibodies in alcoholic liver disease // Addict. Biol. – 2000. – Vol. 5, №2. – P. 141-151.
224. Nakano M., Maruyama K., Okuyama K. et al. // Alcohol and Alcoholism. – 1993. – Vol. 28. – Suppl. 1B. – P. 35-40.
225. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines / Biron C.A., Nguyen K.B., Pien G.C. et al. // Annu Rev. Immunol. – 1999. – Vol. 17. – P. 189-220.

226. Nunes H., Lebrec D., Mazmanian M et al. Role of nitric oxide in hepatopulmonary syndrome in cirrhotic rats. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 879-885.
227. Ogurtsov P.P., Garmash I.V., Miandina G.I., Guschin A.E., Itkes A.V., Moiseev V.S. Alcohol dehydrogenase ADH2-1 and ADH2-2 allelic isoforms in Russian population correlate with type of alcoholic disease // *Addic Biol.* – 2001. – Vol. 6. – P. 377-383.
228. Olinga P., Merema M.T., de Jager M.H. et al. Rat liver slicers as a tool to study LPS-induced inflammatory response in the liver. *J. Hepatol.* 2001; 35: 187-194.
229. Pelletier G., Roulot D., Davion T et al. A randomized controlled trial of ursodeoxycholic acid in patients with alcohol-induced cirrhosis and jaundice // *Hepatology.* – 2003. – Vol. 37. – P. 887-892.
230. Pessione F., Ramond M.J., Peters L. et al. Five year survival predictive factors in patients with excessive alcohol intake and cirrhosis. Effect of alcoholic hepatitis, smoking and abstinence // *Liver Int.* – 2003. - Vol. 23, № 1. – P. 45-53.
231. Prognostic factor in alcoholic liver disease / Chedid A., Mendennhall C.L., Gardside P. et al. // *Amer. J. Gastroenterology.* – 1998. – Vol 86. – p. 120.
232. Rossol S. Alcohol und Leber: Übersicht // *Verdauungskrankheiten* – 2001. – Bd 19, №1. – S. 1-18.
233. Rust C., Gores G.J. Apoptosis and liver diseases // *Amer. J. Med.* – 2000. – Vol. 108. – P. 567-574.
234. Saigal S., Kapoor D., Tandon N. et al. High seroprevalence of hepatitis B and C infection in hospitalized patients with alcoholic cirrhosis // *J. Assoc Physicians India.* – 2002. – Vol. 50. – P. 999-1001.
235. Salvucci O., Kolb J. P., Dugas B. et al. The induction of nitric oxide by interleukin-12 and tumor necrosis factor-alpha in human natural killer cells: relationship with the regulation of lytic activity. *Blood* 1998; 92: 2093-2102.

236. Sandhir P., Gill K.D. Hepatoprotective effects of Liv-52 on ethanol induced liver damage in rats // *I. Exp. Biol.* – 1999. – Vol. 37, №8. – P. 762-766.
237. Sher L. Effects of heavy alcohol consumption on the cardiovascular system may be mediated in part by the influence of alcohol-induced depression on the immune system // *Med. Hypotheses.* – 2003. – Vol. 60, №5. – P. 702-706.
238. Slukvin I.I., Boor P.I., Ierrels T.R. Initiation of alcoholic fatty liver and hepatic inflammation with a specific recall immune response in alcoholic – consuming C₅₇B₁/6 // *Clin. and Exp. Immunol.* – 2001. – Vol. 125, №1. – P. 123-133.
239. Smith J.W. Medical manifestation of alcoholism in the elderly.: Rew. // *Int. J. Addict.* – 1995. – Vol. 30, №13-14. – P. 1749-1798.
240. Steroidal management and serum cytokine profile of a case of alcoholic hepatitis with leukemoid reaction / Arguellers-Grande C., Leon F., Matilla I. et al. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 37, №9.- P. 1111-1113.
241. Thompson K.C., Trowern A., Fowell A. Primary rat and mouse hepatic stellate cells express the macrophage inhibitor cytokine interleukin-10 during the course of activation in vitro // *Hepatology.* – 1998. – Vol. 28, №6. – P. 1518-1524.
242. Tilg H., Jalan R., Kaser A. et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody therapy in sever alcoholic hepatitis // *J. Hepatol.* – 2003. – Vol. 38. – P. 419-425.
243. Tilg H., Kaser A. Management of acute alcoholic hepatitis // *Prevention and Intervention in Liver Course.* – Madrid, 2002. – P. 28-37.
244. Tsuneyama K., Harada K., Yasoshima M. et al. Scavenger cells with grampositive bacterial lipoteichoic acid infiltrate around the damaged interlobular bile ducts of primary biliary cirrhosis. // *J. Hepatol.* 2001; 35(2): 156-163.
245. Xie J., Kolls J., Bagby G., Greenberg S.S. Independent suppression of nitric oxide and TNF-alpha in the lung of conscious rats by ethanol. *FASEB J.* 1995; 9: 253-261.

246. Xie X., Mann R.E., Smart R.G. The direct and indirect relationships between alcohol prevention measures and alcoholic liver cirrhosis mortality // *I. Stud. Alcohol.* – 2000. – Vol. 61, №4. – P. 499-506.
247. Yamanaka T., Shiraki K., Nakazaawa S. et al. Impact of hepatitis B and C virus infection on the clinical prognosis of alcoholic liver cirrhosis // *Antocancer Res.* – 2001. – Vol. 21 (suppl. 4). – P. 2937-2940.

