

УДК 616.831-001-06:616.379-008.64]-06:612.015.11-092.9

**АПОПТОЗ НЕЙТРОФІЛІВ ТА ЙОГО ЗВ'ЯЗОК З ОКСИДАТИВНИМ СТРЕСОМ
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ НА ФОНІ
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

©В. М. Мерецький

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

Сучасна концепція патогенезу травматичного ураження органів і тканин розглядає апоптоз і некроз як два головні взаємопов'язані механізми загибелі клітин. Однією з причин апоптозу є оксида-

тивний стрес, який характеризується надмірним накопиченням у тканинах активних форм кисню (АФК).

Метою даної роботи було дослідити взаємозв'язок між ступенем оксидативного стресу у нейт-

рофілах крові та інтенсивністю апоптозу нейтрофілів при черепно-мозковій травмі (ЧМТ) на фоні стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету (ЦД).

Експерименти проводили на статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях, поділених на чотири експериментальні групи: I – інтактні тварини (контроль), II – щури, яким моделювали ЧМТ, III – щури з експериментальним ЦД, IV – щури, яким моделювали ЧМТ на тлі ЦД. Тварин утримували у стандартних умовах віварію у відповідності до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP. Експериментальний ЦД моделювали одномоментним введенням стрептозотоцину. Діабетиками вважали тварин з рівнем глюкози понад 14 ммоль/л. Закри-ту ЧМТ моделювали з використанням розробленої нами методики. Тварин виводили з експерименту через 3 і 24 години, 5 і 14 діб в умовах тіопентало-натрієвого наркозу.

Виділення нейтрофілів проводили методом градієнтного центрифугування. Для оцінки апоптозу нейтрофілів крові використовували ФІТЦ-мічений анексин V (AN), що зв'язується з фосфатидилсерином на зовнішній поверхні плазмолемі, та пропідію йодид (PI). Для вимірювання рівня активних форм кисню у нейтрофілах крові використовували дихлорфлуоресцеїну діацетат. Оцінку апоптозу нейтрофілів крові та рівень продукції АФК здійснювали на проточному цитофлуориметрі Epics XL.

За результатами дослідження встановлено, що на 1 добу посттравматичного періоду показник AN перевищував норму на 35,4 %, сягаючи максимуму на 5 добу спостереження (150,5 % порівняно з контролем). Достовірне збільшення показника PI у травмованих тварин виявлено тільки

на 5 і 14 доби експерименту – на 46,2 і 30,8 % відповідно. Продукція АФК у нейтрофілах після ЧМТ різко зростала і перевищувала показники контролю на 110, 140,1 і 101,6 % через 3, 24 год і 5 діб відповідно. У тварин із ЦД виявлено вірогідне, порівняно з контролем, збільшення на 32,7 % кількості клітин в ділянці, яка відповідає ранній стадії апоптозу. Кількість нейтрофілів у квадранті пізньої стадії апоптозу зростала на 61,5 %. Вказані зміни супроводжувались збільшенням у нейтрофілах вмісту АФК на 71,8 %. У групі тварин з ЧМТ на фоні ЦД встановлено, що показник AN перевищував аналогічні значення у II-й експериментальній групі на 32,8, 39,8, 61,3 і 86,1 % через 3, 24 год, 5 і 14 діб відповідно. При вивченні вмісту циркулюючих PI позитивних нейтрофілів спостерігалось їх збільшення на 91,7, 107,1, 89,5 і 123,5 %, порівняно з травмованими тваринами без діабету. Рівень АФК у тварин після ЧМТ на тлі ЦД перевищував значення нормоглікемічних травмованих тварин на 100,9, 97, 121,8 і 93 %, відповідно до термінів посттравматичного періоду. У тварин II експериментальної групи апоптотичний гомеостаз і рівень АФК в нейтрофілах був практично відновлений на 14 добу посттравматичного періоду, на відміну від травмованих щурів з гіперглікемією, в яких фракція клітин, здатних забарвлюватися анексином V та пропідію йодидом, а також вміст вільних кисневих радикалів були статистично вірогідно підвищеними у вказаний термін спостереження.

Таким чином встановлено, що при ЧМТ, цукровому діабеті і, особливо, при ЧМТ на фоні цукрового діабету підвищується інтенсивність апоптозу нейтрофілів крові. Активність апоптотичних процесів корелює з вираженістю оксидативного стресу в нейтрофілах.