

ОСОБЛИВОСТІ ВІДПОВІДІ ІМУННОЇ СИСТЕМИ В РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ МАСИВНОЇ КРОВОВТРАТИ ТА ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ КІНЦІВКИ**Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, Україна)****volotovskanv@tdmu.edu.ua**

Серед патофізіологічних механізмів, які беруть участь в розвитку післяішемічних реперфузійних ускладнень, одна з найвагоміших ролей належить гіпоксії. Спричинивши критичну стресову реакцію на тлі масивної крововтрати, це явище призводить до активації прозапальних інтерлейкінів – системно, а також до виходу в велике коло кровообігу продуктів порушеного метаболізму із ішемізованої кінцівки. Водночас в останній приплив оксигенованої крові на тлі реінфузії тільки поглиблює порушення локального обігну речовин. Метою дослідження стало встановлення рівня циркулюючих імунних комплексів внаслідок ізольованої ішемії-реперфузії кінцівки, ізольованої масивної крововтрати чи травми, а також їхніх поєднань. Було визначено, що кожне з модельованих втручань характеризуються вираженими порушеннями гуморального імунітету, які супроводжуються накопиченням у сироватці крові ЦІК та розвитком дизімуноглобулінемії. Також доведено, що на усіх етапах розвитку травматичної хвороби і при відповідних змінах внутрішніх органів відбувається суттєве зростання титру імуноглобулінів А, М, G з перевагою в першу годину після реінфузії, а також зростанням на 7 добу експерименту, що підтверджує виражене антигенне навантаження з залученням як ланки первинної, так і вторинної імунної відповіді в патогенезі посттравматичних змін. Особливістю стало те, що поєднання ішемії-реперфузії кінцівки з крововтратою та механічною травмою пригнічує утворення іміноглобулінів або відтерміновує їх наростання. Дані зміни можна пояснювати як виснаженням функції імунної відповіді на тлі виражених катаболічних процесів у гострому періоді після крововтрати, так і стимулювальним ефектом антигенного навантаження в періоді ранніх проявів, що підтверджувалось співпадінням у часі наростання концентрації циркулюючих імунних комплексів із різким зростанням вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у сироватці та рівня молекул середньої маси в періоди, які були встановлені у попередніх наших дослідженнях.

Ключові слова: масивна крововтрата, механічна травма, ішемія-реперфузія, циркулюючі імунні комплекси, імуноглобуліни.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є фрагментом НДР Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського «Системні та органічні порушення за дії надзвичайних факторів на організм, механізми їх розвитку та патогенетична корекція» (№ державної реєстрації 016U003390).

Вступ. Серед численних причин, які здатні викликати напруження чи декомпенсацію імунної ланки

захисту організму є синдром довготривалого стискування. У даних літератури зустрічають згадки про розвиток імунної відповіді також і на тлі менших патологічних впливів, але таких, які супроводжуються явищами реінфузії – зстосування кровоспинного джгута при операціях артропластики чи трансплантації все частіше розглядається в контексті неоднозначного її впливу. Також, на полі бою і досі турнікет є першим і ефективним, і простим у застосуванні засобом домедичної допомоги [1, 2]. Проте, за даними авторів, двогодинна ішемія здатна ускладнювати перебіг гострої крововтрати і сприяти поліорганній дисфункції [3].

Активні бойові дії, що періодично виникають в світі, в тому числі в Україні, супроводжуються травмами та крововтратами й потребують прискіпливого вивчення механізмів ішемічно-реперфузійного синдрому внаслідок застосування турнікета [4, 5]. Тиск на підлеглі тканини, виснаження макроергічних сполук в перетиснутій ділянці, місцевий іонний дисбаланс і локальна активація перекисного окиснення ліпідів та білків [6] є тими додатковими факторами, які після звільнення від джгута кінцівки спричиняють масовий викид в кров продуктів порушеного метаболізму. Оскільки організм уже є спровокованим наявною крововтратою чи скелетною травмою, то уявлення про кровоспинний джгут як додатковий фактор дисбалансу захисних сил організму потрібно розглядати і шукати шляхи протидії. Раніше нами було висвітлено активну участь і порушення у печінці та нирках на біохімічному та морфологічному рівнях [7]; було виявлено суттєве зростання ПОЛ та пригнічення системи антиоксидантного захисту в гострому періоді після травм. Водночас, можна припустити, що одним із факторів напруження ренальної функції є порушення на рівні базальної мембрани клубочків, що може бути спричинене впливом і «осіданням» циркулюючих імунних комплексів. Багато вчених звертають увагу на факт нагромадження циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові внаслідок розвитку післятравматичних порушень метаболізму [8], а також у тканинах із наступним розвитком аутоімунної відповіді та залученням судинно-гематологічного компоненту [9].

Парадоксальність ішемічно-реперфузійного синдрому полягає в тому, що сама по собі ішемія тканин має несприятливий локальний вплив на тканину, тоді як відновлення кровопостачання замість того, аби забезпечити звичне функціонування ураженої ділянки, навпаки, посилює наявні патологічні зміни, і навіть може мати системний патогенний вплив [10]. Ускладнювальний вплив кровоспинного джгута на системні наслідки масивної крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією, особливо, на динаміку по-

рушень імунітету та змін ЦІК ще недостатньо вивчений. Встановлення механізмів відповіді у цих умовах в ранньому післятравматичному періоді стало першочерговою метою даного дослідження.

Мета дослідження – встановлення динаміки концентрації циркулюючих імунних комплексів, а також закономірності порушень гуморального імунітету внаслідок системного впливу ішемії-реперфузії кінцівки, а також масивної крововтрати.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент виконано на 160 самцях білих нелінійних щурів масою 200-250 г, які перебували на стандартному режимі утримання виварію. Усіх тварин поділили на 3 групи: контрольну (КГ) та 3 дослідних (по 10 тварин в кожній). Тварин КГ вводили в наркоз на тлі застосування еквівалентної дози тіопенталу-натрію і здійснювали забір матеріалу для дослідження, як і в експериментальних групах (ЕГ). ЕГ-1 об'єднала тварин, яким моделювали ішемію-реперфузію кінцівки (ІРК). Під тіопентало-натрієвим знеболенням (40 мг·кг⁻¹ маси тіла) на ліву нижню кінцівку проксимально було накладено джгут «SWAT-T» (США) шириною 10 мм, що відповідає ширині джгута при накладанні на стегно дорослої людини – такий спосіб моделювання ішемії-реперфузії має мінімальний травматичний вплив на підлеглі тканини завдяки своїй ширині і тривалістю в часі больовим порогом [11]. У ЕГ-2 в умовах знеболення було змодельовано гостру масивну крововтрату (до 40% від ОЦК) шляхом пункції стегової вени, після чого здійснювали гемостаз. У ЕГ-3 ці два ушкодження поєднувалися.

Кількість циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові визначали преципітацією їх розчином полі етиленгліколю – 6000 [12]. Вміст сироваткових Іg А, Іg М, Іg G досліджували турбодиметричним методом з використанням напіваавтоматичного біохімічного аналізатора «Humalyser 2000» і наборів реактивів фірми «Human» (Німеччина). Усі етапи дослідження були виконані згідно рекомендацій Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових

цілей (Страсбург, 1986), резолюції Першого Національного Конгресу з біоетики (Київ, 2001), Закону України “Про захист тварин від жорстокої поведінки” (2006), [13].

Статистичний аналіз отриманих даних було виконано з допомогою Excel (Microsoft, USA). Крім абсолютних величин, які подані в таблицях у вигляді медіани (Me), нижнього і верхнього квантилів (LQ; UQ), розраховували відхилення кожного показника у відсотках до рівня контролю (100,0%). Для оцінки вірогідності відмінностей визначали характер варіаційного розподілу показників у групах порівняння. У зв'язку з відсутністю нормального розподілу застосовували непараметричний критерій Манна-Уїтні. Відмінності вважали істинним при вірогідності нульової гіпотези не більше 5% (p<0,05).

Результати дослідження та їх обговорення. Оцінка концентрації ЦІК в різні періоди після експериментальних втручань показала, що їхній рівень зростав під впливом усіх втручань, особливо активно в групі, де додатковим фактором була ІРК, а також знижувався, коли прояви ПОЛ стихали. Додатковим фактором зниження показника у ЕГ-2 та ЕГ-3 можна вважати компенсаторну гемодилуцію. Так, як видно з **таблиці 1**, у ЕГ-1 показник через 1 год після втручання перевищив дані КГ на 12,7%, далі, на 1, 3 та 7 доби показник був вищим на 50,8, на 63,9 і на 7,1% відповідно. Показник у ЕГ-2 через 1 год після втручання був вищим за дані КГ на 12,3%, проте на 1 добу – знизився, порівняно з КГ, на 21,8%. Проте на 3, 7 та 14 доби він знову перевищив дані КГ на 96,1%, у 2,09 раза і на 74,6% відповідно. Виражені зміни спостерігалися ві в ЕГ-3, коли вже через 1 год показник у ній перевищив дані КГ на 43,7%. Далі, у всьому післятравматичному періоді вміст ЦІК хоч і мав хвилеподібну динаміку, проте переважав дані КГ – на 1, 3, 7 та 14 доби – на 77,8, на 26,5%, а також у 2,49 і в 2,29 раза відповідно.

Однією з причин наростання ЦІК є розвиток недостатності ниркової функції, що було підтверджено нами раніше, а також іншими авторами. У механізмах наростання концентрації цих речовин значна роль належить зниженню швидкості клубочкової фільтрації або неспроможності ренального фільтраційного бар'єру пропустити весь надмір речовини, що екскретується, однак оцінка ураження нирок неможлива без визначення функціональної здатності печінки. За даними літератури, підтвердженням токсичного ураження гепатоцитів є зниження рівня сечовини, порівняно з контрольною та інтактною групою [14]. При цьому ознакою активації білкового обміну на тлі порушення динамічної рівноваги анаболічно-катаболічних процесів – в сторону останнього – є достатній рівень креатиніну та зростання рівня сечовини [15] за умови виключення ураження нирок. Зважаючи на останній фактор, дуже важливо на тлі поєднаної патології вчасно встановити ознаки порушення функції нирок, правильно їх інтерпретувати.

Результати досліджень показали, що вміст ЦІК, так само, як і імунoglobulinів, наростав у всіх експериментальних групах, особливо це було виражено на тлі поєднання масивної

Таблиця 1 – Вміст ЦІК (од.ум.) у сироватці крові після ішемії-реперфузії кінцівки, крововтрати та механічної травми (Me (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній квантилі)

Дослідна група	Термін реперфузійного періоду				
	1 год	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Контроль = 58,65 (57,22; 62,16); (n=10)					
Група 1 Ішемія-реперфузія	66,12 (66,24; 68,26)* (n=10)	88,45 (84,46; 90,28)* (n=10)	96,15 (95,26; 97,32)* (n=10)	62,80 (60,22; 66,46) (n=10)	60,15 (55,56; 62,22) (n=10)
Група 2 Крововтрата	65,66 (64,28; 68,26)* (n=7)	48,15 (46,28; 48,44)* (n=7)	115,04 (110,25; 116,46)* (n=6)	122,75 (120,48; 132,60)* (n=7)	102,43 (95,64; 106,80)* (n=7)
Група 3 Ішемія-реперфузія+ крововтрата	78,54 (78,56; 82,46)* (n=6)	104,30 (100,25; 105,46)* (n=6)	74,22 (72,26; 76,22)* (n=6)	146,2 (140,52; 154,68)* (n=6)	134,18 (128,44; 134,22)* (n=5)
p ₁₋₃	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
p ₂₋₃	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Примітки тут і нижче: * – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p< 0,05); p₁₋₃ – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 1 і 3; p₂₋₃ – вірогідність відмінностей стосовно дослідних груп 2 і 3.

крововтрати з ішемією-реперфузією кінцівки. Як видно з **таблиці 2** вміст сироваткового імуноглобуліну А зростає під впливом експериментальних втручань. Так, у ЕГ-1 через 1 год після реперфузії показник перевищив дані КГ на 5,9%. На 1 добу показник був вищим на 11,8%, а на 3 добу – на 29,4%. Також він залишався вищим і на 7 добу, перевищивши дані КГ на 21,6%. Зростання показника в ЕГ-2 та ЕГ-3 мало хвилеподібний характер, очевидно, зумовлений як гемодилуцією в періоді гострих проявів післятравматичної хвороби, так і виснаженням імунної функції внаслідок посилення катаболічних процесів на цьому тлі. Зокрема, через 1 год показник у ЕГ-1 та ЕГ-2 перевищував дані КГ на 17,6 та на 84,3%. Далі, показник у ЕГ-2 зріс на 1 добу в 2,2 раза. На 3 добу, незважаючи на зниження з попереднім періодом, показник у ЕГ-2 перевищував дані КГ на 91,2%; також він залишався вищим і на 7 та 14 доби – у 2,64 і у 2,45 раза відповідно. Показник у ЕГ-3 перевищував дані КГ у 2,16 раза. На 3 добу, незважаючи на зниження, був вищим на 43,1%. Також залишався вищим і на 7 та 14 доби – у 2,94 і у 2,84 раза відповідно.

Як видно з **таблиці 3**, вміст Ig M у сироватці крові теж виражено зростає під впливом усіх експериментальних втручань. Так, через 1 год показник у ЕГ-1 перевищував рівень КГ на 13,3%. На 1 добу він збільшився, порівняно з КГ, на 26,7 і досяг свого піку на 3 добу, будучи вищим на 86,7%. На 7 та 14 доби показник і далі залишався вищим щодо КГ на 29,3 і на 12% відповідно. При порівнянні з даними КГ показник у ЕГ-2 теж був збільшений і досяг свого піку на 1 добу після втручання – був вищим у 2,87 раза.

Також він був вищим і через 1 год, на 3, 7 та 14 доби – на 46,7%, у 2 раза, на 50 і на 33,3% відповідно. Показник у ЕГ-3 був найвищим через 1 год після втручання – переважав дані КГ на 53,3 % після чого на 1 добу, хоч і знизився, та був вищим на 40%. Також мав другий пік підйому на 14 добу – на 13,3%. В інші періоди – на 3 та 7 доби виявився нижчим щодо даних КГ – 25 і на 20%, в основі чого, очевидно, була як депресія імунної відповіді, так і явища компенсаторної гемодилуції.

Як видно з **таблиці 4**, вміст Ig G у сироватці крові постійно змінювався під впливом експериментальних втручань. Так, у ЕГ-1 зростає дуже мало в досліджуваному періоді: на 1 добу він перевищував дані КГ на 4,5%, а на 3 добу, досягнувши свого піку в цій групі – на 14,5%. Такж він був вищим і на 7 добу – на 5,5%. У ЕГ-2 через 1 год перевищував дані КГ на 9,8%, а на 1 добу після втручання був найвищим в цій групі – перебільшував дані КГ на 22,4%.

Також він залишався підвищеним і на 3, 7 та 14 доби – на 7,4, на 14 і на 7,4%. У ЕГ-3 зростання ве-

Таблиця 2 – Вміст Ig A (г·л⁻¹) у сироватці крові після ішемії-реперфузії кінцівки, крововтрати та механічної травми (Me (LQ;UQ) – медіана (нижній і верхній квартилі))

Дослідна група	Термін реперфузійного періоду				
	1 год	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Контроль = 1,02 (0,96; 1,06) (n=10)					
Група 1 Ішемія-реперфузія	1,08 (0,98; 1,14) (n=10)	1,14 (1,12; 1,18)* (n=10)	1,32 (1,22; 1,34)* (n=10)	1,24 (1,24; 1,28)* (n=10)	1,07 (0,96; 1,10) (n=10)
Група 2 Крововтрата	1,20 (1,18; 1,34)* (n=7)	2,24 (2,02; 2,36)* (n=7)	1,95 (1,84; 2,08)* (n=6)	2,70 (2,56; 2,72)* (n=7)	2,52 (2,42; 2,64)* (n=7)
Група 3 Ішемія-реперфузія+ крововтрата	1,88 (1,64; 1,92)* (n=6)	2,22 (2,18; 2,34)* (n=6)	1,46 (1,40; 1,68)* (n=6)	3,05 (2,92; 3,16)* (n=6)	2,94 (2,92; 3,12)* (n=5)
p ₁₋₃	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
p ₂₋₃	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Таблиця 3 – Вміст Ig M (г·л⁻¹) у сироватці крові після ішемії-реперфузії кінцівки, крововтрати та механічної травми (Me (LQ;UQ) – медіана (нижній і верхній квартилі))

Дослідна група	Термін реперфузійного періоду				
	1 год	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Контроль = 1,50 (1,36; 1,58) (n=10)					
Група 1 Ішемія-реперфузія	1,71 (1,64; 1,78)* (n=10)	1,90 (1,82; 1,95)* (n=10)	2,80 (2,78; 3,02)* (n=10)	1,94 (1,82; 1,96)* (n=10)	1,68 (1,54; 1,74) (n=10)
Група 2 Крововтрата	2,20 (2,18; 2,34)* (n=7)	4,33 (4,28; 4,50)* (n=7)	3,00 (2,85; 3,06)* (n=6)	2,25 (2,20; 2,36)* (n=7)	2,05 (1,96; 2,12)* (n=7)
Група 3 Ішемія-реперфузія+ крововтрата	2,34 (2,28; 2,40)* (n=6)	2,11 (2,02; 2,20)* (n=6)	1,22 (1,12; 1,28)* (n=6)	1,25 (1,20; 1,33)* (n=6)	1,70 (1,60; 1,82)* (n=5)
p ₁₋₃	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
p ₂₋₃	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

личини показник було більш активним: якщо через 1 год він перевищував дані КГ на 7,6%, то на 1 та добу був більшим на 39,7 і на 57,2% відповідно. На 7 добу, проте, він знизився нижче рівня КГ – на 6,8%, а також на 14 добу – на 37,1%.

Експериментально підтверджено, що в патогенезі ураження міокарда внаслідок ІР є багато шляхів, серед яких порушення активності йонних каналів, зростання активних форм кисню, запалення та ендотеліальна дисфункція [16]. Ці самі механізми активуються і при ішемії-реперфузії іншої локалізації. Вказується також і на визначальну роль секреції запальних цитокінів та експресії проапоптичних факторів та зростання активації протизапальних агентів [17]. Є напрацювання, де автори розглядають значення функціональних складових системи регуляції агрегатного стану крові в локальних проявах синдрому ішемії-реперфузії, таких як ендотеліальне ушкодження [18-21], а окремі автори вказують на розвиток місцевого ДВЗ-синдрому [22]. Оскільки на тлі пероксидації, коли гідроксильні радикали спричинюють і підтримують надмір пероксидації ліпідних структур клітинних мембран, відбувається продукція

Таблиця 4 – Вміст Ig G (г·л⁻¹) у сироватці крові після ішемії-реперфузії кінцівки, крововтрати та механічної травми (Me (LQ;UQ) – медіана (нижній і верхній квартилі))

Дослідна група	Термін реперфузійного періоду				
	1 год	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Контроль = 5,8 (5,23; 5,96) (n=10)					
Група 1 Ішемія-реперфузія	5,94 (5,88; 1,02)* (n=10)	6,06 (5,45; 6,11)* (n=10)	6,64 (6,52; 6,77)* (n=10)	6,12 (6,08; 6,23)* (n=10)	5,1 (5,0; 5,18) (n=10)
Група 2 Крововтрата	6,37 (6,24; 6,48)* (n=7)	7,1 (7,02; 7,2)* (n=7)	6,23 (6,11; 6,35)* (n=6)	6,61 (6,52; 6,78)* (n=7)	6,23 (6,11; 6,38)* (n=7)
Група 3 Ішемія-реперфузія+ крововтрата	6,25 (5,14; 6,36)* (n=6)	8,1 (8,02; 8,18)* (n=6)	9,12 (9,06; 9,28)* (n=6)	5,43 (5,31; 5,58)* (n=6)	4,23 (4,12; 4,43)* (n=5)
p ₁₋₃	<	<	<	<	<
p ₂₋₃	<	>	<	<	>

і вивільнення в коло системної циркуляції прозапальні ейкозаноїдів, порушення клітинної проникності і зростання клітинної загибелі. Активуються і ендотеліоцити, що посилено синтезують фактор некрозу пухлин, а також сприяють порушенню адгезивних властивостей клітин крові, зокрема сприяють зростанню адгезії нейтрофілів до ендотеліоцитів і їхньому просочуванню крізь судинну стінку в ділянці ішемічно-реперфузійних впливів [23] з наступним ушкоджувальним ефектом на цьому тлі. Водночас, саме ця група вчених, яка вивчала активну участь різних біологічно активних структур, як от молекула міжклітинної адгезії (ICAM-1), молекула ендотеліально-лейкоцитарної адгезії (ICAM-2), молекула адгезії клітин судин встановили важливу роль підвидів імуноглобулінів G в процесах розвитку ішемії-реперфузії; при цьому спроби блокувати адгезію вищезазначених молекул з допомогою моноклональних антитіл на жаль не мало позитивних чи лікувальних ефектів у клінічній практиці. Натомість ще одна група вчених наголошує на сприятливих результатах внутрішньовенного введення імуноглобулінів щурам, в яких було змодельовано серцеву ішемію-реперфузію [24]. Аналізуючи дані отриманої інформації, можна зробити висновок, що гостра реакція імунної системи сама по собі є як захисним, так і ушкоджувальним чинником [25, 26]. Зокрема, отримано дані про роль Ig M у активізації лектинового шляху ушко-

дження на тлі мезентеріальної ішемії-реперфузії [27]. У основі такого характеру відхилень ЦІК та показників гуморального імунітету, на нашу думку, лежить коливання викиду в кровононе русло імуноглобулінів різних класів, що пов'язано, як з особливостями їхнього синтезу, так і складністю травмувального втручання, яке впливає на імунну систему: вихід крові з циркуляторного русла, зменшення об'єму циркулюючої крові, що є наслідком крововтрати, гіпоксія органів, викид медіаторів запалення (в першу чергу цитокінів). Ймовірно, така нестабільність і коливання відповіді з боку системи гуморального імунітету якраз і ілюструє розвиток адаптаційно-приспосовувальних перебудов організму. Співставивши вираженість реакції та концентрації імуноглобулінів на тлі різних видів експериментальних втручань, можна зробити висновок, що найбільш адекватною була реакція імунної системи на ізольовану ішемію-реперфузію кінцівки – коли вміст імуноглобулінів та ЦІК плавно наростали і поступово знижувалися до 7 та 14 діб. Поєднання експериментальних втручань призводило як до гіпервідповіді в періоді гострих проявів на стрес і згодом змінювалося виснаженням синтезу імуноглобулінів усіх класів, які вивчалися нами. Такі відхилення загалом відповідають інтенсивності та специфіці зовнішніх подразників і відображають їх функцію у часі.

Висновки. Модельовані травми характеризуються вираженими порушеннями гуморального імунітету, які супроводжуються накопиченням у сироватці крові ЦІК та розвитком дизімуноглобулінемії. Доведено, що на усіх етапах розвитку травматичної хвороби і при відповідних змінах внутрішніх органів відбувається суттєве зростання титру імуноглобулінів А, М, G з перевагою в першу годину після реінфузії, а також зростанням на 7 добу експерименту, що підтверджує виражене антигенне навантаження з залученням як ланки первинної, так і вторинної імунної відповіді в патогенезі посттравматичних змін. Особливістю стало те, що поєднання ішемії-реперфузії кінцівки з крововтратою здатне пригнічувати утворення іміноглобулінів в більш пізніх термінах дослідження.

Перспективи подальших досліджень. Планується оцінювання експериментальної ефективності застосування антиоксидантної терапії на наслідки ІРС кінцівки.

Література

- Inaba K, Siboni S, Resnick S, Zhu J, Wong MD, Haltmeier T, et al. Tourniquet use for civilian extremity trauma. J Trauma Acute Care Surg. 2015 Aug;79(2):232-237:26218691. DOI: 10.1097/TA.0000000000000747.
- Kauvar DS, Dubick MA, Walters TJ, Kragh JF Jr. Systematic review of prehospital tourniquet use in civilian limb trauma. J Trauma Acute Care Surg. 2018 May;84(5):819-825:29432381. DOI: 10.1097/TA.0000000000001826.
- Yavorska IV. Vplyv hostroi krovovtraty, uskladnenoї ishemiїeu-reperfuziїeu kintsivky na dynamiku pokaznykiv enzymnoi lanky antyoksydantnoho zakhystu v selezintsi ta yoho korektsiїa karbatsetamom. Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyn. 2021;2:195-202. DOI: 10.11603/1811-2471.2021.v.i2.12225. [in Ukrainian].
- Ardasheva EI, Razumov PS, Dolgova SG. Vliyaniye perforana na protsessy perekisnogo okisleniya lipidov v golovnom mozge i myagkikh tkanyakh kryz pri tyazhelyoї kompressionnoy travme. Biomeditsynskiy zhurnal. 2004;5:151-153. [in Russian].
- Henyk SM, Symych AV. Reperfuziyni syndrom pislia revaskulyaryzatsiї ishemiї nyzhnikh kintsivok. Sertse i sudyny. 2016;3:104-108. [in Ukrainian].
- Burianov OA, Strafun SS, Shlapak IP, Laksha AM, Halushko OA, Yarmoliuk YuO, et al. Vohnepalni poranennia kintsivky. Kyiv, 2015. 46 s. [in Ukrainian].
- Volotovska NV, Hudyma AA. Osoblyvosti hepatorenalnoi reaksii na tli eksperymentalnoho ishemično-reperfuziinoho syndromu. Visnyk problem biolohiy i medytsyny. 2020;2(156):86-9. [in Ukrainian].
- Kozak DV. Dynamika vmistu tsyrkuliuyuchykh imunnykh kompleksiv ta imunoglobuliniv u vidpovid u vidpovid na politravmu v eksperymentі. Klinichna khirurhiia. 2013;12(852):76-78. [in Ukrainian].
- Kazmirchuk V, Kovalchuk LV. Klinichna imunolohiia i alerholohiia. Vinnytsia: Nova knyha; 2006. 504 s. [in Ukrainian].

10. Nebylitsin YuS, Lazuko SS, Kutko EA. Sindrom ishemii-reperfuzii nizhnikh konechnostey. Vestnik VGMU. 2018;17(6):18-31. Dostupno: <https://cyberleninka.ru/article/n/sindrom-ishemii-reperfuzii-nizhnih-konechnostey>. [in Russian]
11. Wall PL, Duevel DC, Hassan MB, Welander JD, Sahr SM, Busing CM. Tourniquets and oklusion: the pressure of design. Military Medicine. 2013;178(5):578-587.
12. Chernushenko EF, Kogosova LS. Immunologicheskiye metody issledovaniya v klinike. K.: Zdorov'ya; 1978. 160 s. [in Russian].
13. Vytiah z zakonu Ukrainy «Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia». Morfolohiia. 2010;IV(2):12-15. [in Ukrainian].
14. Gorlov IV, Slozhenkina MI, Mosolova NI, Belik SN, Levakhin VI. Izmeneniye struktury vnutrennikh organov krysa poluchavshikh kormovuyu dobavku s aktibakterialnymi komponentami. Vestnik Rossiyskoy akademii selskokhozyaystvennykh nauk. 2015;5:38-32. [in Russian].
15. Belik SN, Zhukova TV, Svintukhovskiy OA, Kharaguriyeva IM, Avetisyan ZI. Sravnitelnyy analiz pokazateley belkovogo obmena u krysa pri otsenke kachestva i bezopasnosti produktov zhivotnovodstva. Zdorovye i obrazovaniye v KhKhI veke. 2016;18(6):52-55. [in Russian].
16. Turer AT, Hill JA. Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy. Am J Cardiol. 2010 Aug 1;106(3):360-368. DOI: 10.1016/j.amjcard.2010.03.032.
17. Zhang J, Zhang J, Yu P, Chen M, Peng Q, Wang Z, et al. Remote Ischaemic Preconditioning and Sevoflurane Postconditioning Synergistically Protect Rats from Myocardial Injury Induced by Ischemia and Reperfusion Partly via Inhibition TLR4/MyD88/NF-κB Signaling Pathway. Cell Physiol Biochem. 2017;41(1):22-32.
18. Rodrigues SF, Granger DN. Role of blood cells in ischaemia-reperfusion induced endothelial barrier failure. Cardiovasc Res. 2010 Jul 15;87(2):291-9. DOI: 10.1093/cvr/cvq090.
19. Khatri R, McKinney AM, Swenson B, Janardhan V. Blood-brain barrier, reperfusion injury, and hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. Neurology. 2012;79(13):52-7. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182697e70.
20. McDonagh PF, Hokama JY, Copeland JG, Reynolds JM. The blood contribution to early myocardial reperfusion injury is amplified in diabetes. Diabetes. 1997 Nov;46(11):1859-1867. DOI: 10.2337/diab.46.11.1859.
21. Chatauret N, Badet L, Barrou B, Hauet T. Ischemia-reperfusion: From cell biology to acute kidney injury. Prog Urol. 2014 Jun;24(1):4-12. DOI: 10.1016/S1166-7087(14)70057-0.
22. Uhlmann D, Armann B, Gaebel G, Ludwig S, Hess J, Pietsch UC, et al. Endothelin A receptor blockade reduces hepatic ischemia/reperfusion injury after warm ischemia in a pig model. J Gastrointest Surg. 2003 Mar-Apr;7(3):331-9. DOI: 10.1016/s1091-255x(02)00417-1.
23. Fritridge R, Thompson M, editors. Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists. Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011. 587 p.
24. Al-Hariz W, Babiker F. Acute intravenous infusion of Immunoglobulins protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through inhibition of caspase-3. Cell Physiol Biochem. 2017;42:2295-2306. DOI: 10.1159/000480002.
25. Festal EI, Nosenko VM, Populiakh OI. Nevidkladna terapiia porushen imunitetu v hostromu periodi opikovoi khvoroby. Medytsyna neotlozhnykh sostoiyaniy. 2010;5(30):77-82. [in Ukrainian].
26. Nikulin BA. Otsenka i korektsiya immunnogo statusa. M: GEOTAR-MEDIA; 2007. 367 s. [in Russian].
27. Zhang M, Takamashi K, Alikot AM, Vorup-Jensen T, Kessler B, Thiel S, et al. Activation of the Lectin pathway by natural IgM in a model of ischemia/reperfusion injury. J Immunol. 2006;177:4727-4734. DOI: 10.4049/jimmunol.177.7.4727.

ОСОБЛИВОСТІ ВІДПОВІДІ ІМУННОЇ СИСТЕМИ В РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ МАСИВНОЇ КРОВОВТРАТИ ТА ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUZІЇ КІНЦІВКИ

Волотовська Н. В.

Резюме. За різних впливів зовнішнього середовища імунна система організму чутливо реагує. Виконуючи протекторну функцію вона, однак, може стати також і причиною аутоімунних процесів, які тільки поглиблюють основне захворювання, особливо в умовах вже активованої системної відповіді на запалення. Таким чином порушення дисбаланс в імунній системі може стати одним із чинників «хибного кола», яке виникає на тлі крововтрати, а циркулюючі імунні комплекси можуть сприяти розвитку гепато-ренального синдрому. Однак, недостатньо вивченими залишаються ці поняття за умов поєднання масивної крововтрати з ішемією-реперфузією.

Мета дослідження – встановлення динаміки концентрації циркулюючих імунних комплексів, а також закономірності порушень гуморального імунітету внаслідок системного впливу ішемії-реперфузії кінцівки, а також масивної крововтрати.

Об'єкт і методи дослідження. Робота виконана на білих нелінійних щурах-самцях, а об'єктом вивчення став перебіг масивної крововтрати за умов ішемії-реперфузії кінцівки. У тварин моделювали ішемію-реперфузію кінцівки з допомогою накладання еластичного джгута на верхню третину стегна за встановленою методикою, також моделювали масивну крововтрату зі стегової вени шляхом пункції стегової вени, а в третій групі ці два втручання були поєднані.

Результати. Моделювані втручання характеризуються вираженими порушеннями гуморального імунітету, які супроводжуються накопиченням у сироватці крові ЦІК та розвитком дизімунноглобулінемії. Вміст Ig A за умов додаткового моделювання ішемії-реперфузії кінцівки (ЕГ-3) характеризувався двома періодами зростання на 1 та 7 доби після втручання і був вищий, порівняно з іншими дослідними групами. Вміст Ig M у ЕГ-3 зростає вже через 1 год після реперфузії (на 53,3 % порівняно з контролем), проте у подальшому залишався на найнижчому рівні. Вміст Ig G збільшувався в усіх досліджуваних групах в основному до 3 доби з подальшим зниженням. У ЕГ-3 показник на 14 добу ставав істотно меншим від контролю (p<0,05).

Висновки. На усіх етапах розвитку травматичної хвороби відбувається суттєве зростання титру імуноглобулінів А, М, G з перевагою в першу годину після реінфузії, а також зростанням на 7 добу експерименту, що підтверджує виражене антигенне навантаження з залученням як ланки первинної, так і вторинної імунної відповіді в патогенезі посттравматичних змін. Особливістю стало те, що поєднання ішемії-реперфузії кінцівки з крововтратою здатне пригнічувати утворення імуноглобулінів в більш пізніх термінах дослідження.

Ключові слова: масивна крововтрата, механічна травма, ішемія-реперфузія, циркулюючі імунні комплекси, імуноглобуліни.

PECULIARITIES OF THE IMMUNE SYSTEM RESPONSE IN THE EARLY PERIOD AFTER THE MASSIVE BLOOD LOSS AND LIMB ISCHEMIA-REPERFUSION

Volotovska N. V.

Abstract. Under various environmental influences, the immune system responds sensitively. Implementation a protective function, however, it can also cause autoimmune processes, which will only aggravate the underlying disease, especially in conditions of already activated systemic response to inflammation. Thus, imbalance in the immune system can be one of the factors of the «vicious circle» that occurs on the background of a blood loss, when circulating immune complexes can contribute to hepato-renal syndrome. However, these concepts remain insufficiently studied in the conditions of combining massive blood loss with ischemia-reperfusion.

The aim of the study – to know the dynamics of the concentration of circulating immune complexes, as well as the patterns of violations of humoral immunity due to the systemic effects of limb ischemia-reperfusion and massive blood loss.

Object and methods of research. The work was performed on white nonlinear male rats, and the object of study was the course of massive blood loss under conditions of ischemia-reperfusion of the limb. In animals, limb ischemia-reperfusion was simulated by applying an elastic tourniquet to the upper third of the thigh according to the established method, massive blood loss from the femoral vein by femoral vein puncture was simulated, and in the third group these two interventions were combined.

Results. The simulated interventions are characterized by pronounced disorders of humoral immunity, which are accompanied by accumulation in the serum of the CIC and the development of dizimunoglobulinemia. The content of Ig A in the conditions of blood loss combined with limb ischemia-reperfusion (EG-3) was characterized by two periods of growth on the 1 and 7 days after the intervention and was higher compared to other experimental groups. The content of Ig M in EG-3 increased on the 1 h after reperfusion (by 53.3% compared with the control), but later remained at the lowest level. The content of Ig G increased in all study groups mainly up to the 3 day with a subsequent decrease. In EG-3 the index on the 14 day became significantly lower than the control ($p < 0.05$).

Conclusions. At all stages of development of traumatic disease there is a significant increase in the titer of immunoglobulins A, M, G with an predominance in the first hour after reinfusion, as well as an increase on the 7 day of experiment, that confirms a strong antigenic load involving both primary and secondary immune response in pathogenesis of post-traumatic changes. The peculiarity was that the combination of limb ischemia-reperfusion with blood loss can inhibit the formation of immunoglobulins.

Key words: massive blood loss, mechanical trauma, ischemia-reperfusion, circulating immune complexes, immunoglobulins.

ORCID автора та його внесок до статті:

Volotovska N.V.: 0000-0003-4073-3148^{ABDEF}

Адреса для кореспонденції

Волотовська Наталія Володимирівна

Тернопільський національний медичний університет

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Адреса: Україна, 46004, м. Тернопіль, вул. Тарнавського 4а

Тел.: +38(096)095-37-32

E-mail: volotovskanv@tdmu.edu.ua

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Білаш С. М.

Стаття надійшла 04.05.2021 року

Стаття прийнята до друку 10.11.2021 року