ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ГУМОРАЛЬНИХ ЧИННИКІВ ЗАПАЛЕННЯ ТА РЕГЕНЕРАЦІЇ У ХВОРИХ ПРИ ТРАВМАХ ФРОНТО-БАЗАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ

¹Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

²Обласна клінічна лікарня ім. М.І. Пирогова

³Державна установа «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка
Національної академії медичних наук України»

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) і, зокрема, травма лобної кістки (ТЛК), викликає складні патологічні зміни в організмі як в ранньому, так і в більш пізньому періоді життя після травми [8, 10]. Сучасні підходи до лікування ТЛК не в повному обсязі враховують різні фактори патогенезу, в тому числі і роль імунних реакцій в процесах регенерації кісткового матриксу [3, 8, 10, 12, 15]. Репарація структур кісток при фронтальних травмах лобної кістки залежить від активуючих стимулів з боку клітин імунної системи, що є доведеним в ряді наукових робіт [2, 3, 12, 15].

Існує декілька поглядів на роль окремих препаратів різної спрямованості, що можуть впливати на процес регенерації пошкодженої кістки. Так, на сьогодні є обґрунтовані дослідження загального плану про значення вітаміну D в метаболічних процесах в мезенхімальній тканині, що впливають на формування кісткового матриксу і загальну мінералізацію кісток [1, 11]. Важливими для процесів регенерації кісток є регулятори кальцієво-фосфорного обміну, які по різному впливають на метаболізм кісткової тканини: стимулюють остеобласти та знижують активність остеокластів і таким чином активно відновлюють (ремоделюють) кістковий матрикс. Одним з активних та відомих препаратів цієї групи є остеогенон, основою якого є осейно-гідроапатитові сполуки, що включають локальні регулятори

ремоделювання кісткової тканини, такі як трансформуючий фактор росту – TGF-1 β ; остеокальцин, інсуліноподібні фактори росту – IGF 1, 2; колаген першого типу [12].

Відомо, що при ЧМТ часто виникають імунodefіцитні стани [1, 8, 13], що потребують, окрім ремоделюючих, застосування й імунорегулюючих засобів. Враховуючи ці дані, є доцільним визначити вплив препаратів, що можуть змінити рівень регуляторних цитокінів та чинників ремоделювання кісткової тканини *in vitro* на імуніцити крові у хворих з фронтальними травмами.

Матеріал та методи досліджень

Дослідження проведено у 29 пацієнтів із фронтобазальною травмою лобної кістки з ушкодженням лобної пазухи та у 11 практично здорових донорів. Вік обстежених – від 19 до 40 років, з них жінок було 34,5%.

У пацієнтів в перші дні після госпіталізації в клініку брали венозну кров, з якої отримували сироватку та моноклеари методом осадження в градієнті щільності фіколл-верографіна [4]. В сироватці крові методом ІФА визначались рівні прозапального цитокіну – інтерлейкіну-1 β , протизапального цитокіну – інтерлейкіну 10; регуляторних цитокінів: γ -інтерферона та його антагоніста – інтерлейкіна-4 (реактиви ООО «Цитокин», РФ). Крім того, визначався рівень фактора регенерації – трансформуючого фактора росту (TGF-1 β) із застосуванням

рідера StatFax 2100 (США) та реактивів фірми «DRG Products» (Німеччина).

В умовах *in vitro* визначався вплив ремодулюючих остеогенез препаратів: вітаміну D₃ («Аквадетрим», Mediana Pharma, Польща) та остеогенону (П'єр Фабр, Франція).

Мононуклеари крові донорів та пацієнтів з ТЛК додавали до середовища RPMI-1640 (Serva, Німеччина) з вмістом глютаміну (290 мкг/мл) та ципринолу (40 мкг/мл, КРКА, Словенія) до концентрації 2 млн/мл клітин. Застосовувались полістиролові пробірки (Spektar, Чехія), де в досліді до 1 мл середовища з клітинами крові додавався 0,1 мл розчину вітаміну D₃ (~50 МО) або 0,1 мл розчину остеогенону (100 мкг), а також два препарати одночасно. В контрольні пробірки з клітинами додавались 0,1 мл 0,9% розчину хлористого натрію. Всі дослідні та контрольні пробірки витримувались в CO₂-термостаті (E-160, Туреччина) протягом доби, після чого проводилось центрифугування в холодовій центрифугі NUVE-800R (Туреччина) при 4°C, збирався супернатант, в якому визначались рівні інтерлейкіну-1β та інтерлейкіну-10, а також чинника регенерації – TGF-1β.

При роботі з культурами клітин *in vitro* дотримувались рекомендацій О.Ф. Мельникова, О.Г. Рильської [9]. Статистична обробка даних проводилась за допомогою критерію «U» Вілкоксона-Манна-Уїтні [5].

Результати досліджень

В даному розділі було досліджено вплив остеогенону та вітаміну D на продукцію мононуклеарами крові хворих на ТЛК прозапального цитокіну інтерлейкіна-1β, регуляторного γ-інтерферону та трансформуючого фактору росту – TGF-1β. Було встановлено, що як остеогенон, так і віт. D достовірно знижували продукцію прозапального цитокіну, найбільш ефективно це відбувалось при застосуванні обох препаратів одночасно (рис. 1).

Дослідження впливу вказаних вище препаратів на продукцію γ-інтерферону показало, що препарати впливали на цей процес у вигляді тенденції до збільшення концентрації цитокіну, вектор змін – сталий, у бік підвищення, але статистично ці дані не були вірогідними (рис. 2).

Рис. 1. Вплив ремодулюючих препаратів на продукцію інтерлейкіну-1β мононуклеарами крові хворих на ТЛК *in vitro*.

Рис. 2. Вплив ремодулюючих препаратів на продукцію γ-інтерферону мононуклеарами крові хворих на ТЛК *in vitro*.

Найбільш ефективним був вплив препаратів на продукцію трансформуючий фактор росту TGF-1β – обидва препарати підсилювали продукцію цитокіну як при роздільному застосуванні, так і в поєднанні (рис. 3).

Рис. 3. Вплив ремодуючих препаратів на продукцію цитокіну TGF-1 β мононуклеарами крові хворих на ТЛК in vitro.

Аналіз результатів досліджень

Проведено дослідження експериментального плану in vitro на мононуклеарах крові хворих на ТЛК в найближчому періоді після травми для визначення впливу різних ремодуючих засобів на здатність клітин

крові продукувати про- та протизапальні цитокіни. Було досліджено дію перспективних для імуноткорекції та підсилюючих регенерацію препаратів – остеогенону та водорозчинної форми вітаміну D₃ (аквадетрим). Встановлено ефективну дію обох препаратів, особливо при їх одночасному застосуванні, на зниження рівня прозапального цитокіну – інтерлейкіну-1 β та підсилення продукції трансформуючого фактора регенерації – TGF-1 β . Ці дані отримано вперше і вони дозволяють рекомендувати остеогенон та аквадетрим в комплексному лікуванні травм лобної кістки.

Висновки

1. Препарати «Остеогенон» і «Аквадетрим» (віт. D₃) позитивно впливають на продукцію цитокінів мононуклеарами крові хворих з ТЛК: знижують продукцію прозапальних і підвищують продукцію протизапальних цитокінів, особливо при одночасному застосуванні.

2. Отримані дані експериментального дослідження вказують на доцільність застосування остеогенону та аквадетриму в комплексному лікуванні хворих з травмами лобної пазухи.

Література

- Bondarchuk OD, Kishchuk VV, Melnykov OF, Tymchenko MD, Didyk ND. [Late immunocorrection after frontal orbital trauma surgery that involved the use of biocomposite]. J. ophthalmol. (Ukraine). 2020;(2):56-9. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh202025659>. [Article in Ukrainian].
- Bondarchuk O.D., Kishchuk V.V., Melnykov O.F., Tymchenko M.D., Didyk N.D. [The immune status of patients with frontal bone trauma with implant SYNTEKIST used in surgical treatment]. J. ophthalmol. (Ukraine). 2019;(4):38-42. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh201943842>. [Article in Ukrainian].
- Bondarchuk OD, Kishchuk VV, Melnykov OF, Tymchenko MD, Didyk ND. Status of humoral immune factors in peripheral blood of fronto-orbital trauma patients late after surgery with the use of biocomposite. J. ophthalmol. (Ukraine). 2019;5:37-41. doi: 10.31288/oftalmolzh 201953741.
- Bredun OYu. [Surgical and conservative treatment of children with the pathology of palatine tonsils (clinical and laboratory justification and evaluation of the efficacy of new approaches)] [dissertation]. Kyiv: "O. S. Koliivchenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"; 2020. 35 p. [In Ukrainian].
- Gubler EV. [Informatics in pathology, clinical medicine and pediatrics]. Leningrad: Medicine; 1990. 176 p. [In Russian].
- Drannik GN. [Clinical immunology and allergology]. Kiev: Polygraph plus; 2010. 552 p. [In Russian].
- Кайдашев ІП, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава: Полімет; 2003. 320 с.
- Lisiani NI. [The dual role of the immune system in the pathogenesis of traumatic brain injury]. Ukrainian Neurosurgical Journal. 2019;25(1):5-11. [Article in Russian].
- Melnikov OF, Rytskaya OG. [Experimental study of the immunomodulatory properties of Tonsilgon H in vitro]. Zhurnal usnyh, nosovyh i gorlovyh boleznej. 2005;(3):74-6. [Article in Russian].
- Pedachenko EG, Lisiani NI. Chronic traumatic encephalopathy: the nature, mechanisms and stages of devel-

- opment. Ukrainian Neurosurgical Journal. 2019;25(3):5-11. [Article in Russian].
11. Snopov SA. Mechanisms of action of vitamin D on the immune system. Medical Immunology (Russia). 2014;16(6):499-530. [Article in Russian].
 12. Corps KN, Roth TL, McGavern DB. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury. JAMA Neurol. 2015;72(3):355-62. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.3558.
 13. Das M, Mohapatra S, Mohapatra SS. New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury. J Neuroinflammation. 2012;9:236. doi: 10.1186/1742-2094-9-236.
 14. Gadani SP, Walsh JT, Lukens JR, Kipnis J. Dealing with Danger in the CNS: The Response of the Immune System to Injury. Neuron. 2015;87(1):47-62. doi: 10.1016/j.neuron.2015.05.019.
 15. Woodcock T, Morganti-Kossmann MC. The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. Front. Neurol. 04 March 2013. Available from: <https://doi.org/10.3389/fneur.2013.00018>.

Надійшла до редакції 13.10.2021

© О.Д. Бондарчук, О.Ф. Мельников, М.Д. Тимченко, Н.Д. Дідик, 2021

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ГУМОРАЛЬНИХ ЧИННИКІВ ЗАПАЛЕННЯ ТА РЕГЕНЕРАЦІЇ У ХВОРИХ ПРИ ТРАВМАХ ФРОНТО-БАЗАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ

^{1,2}Бондарчук ОД, ³Мельников ОФ, ³Тимченко МД, ²Дідик НД

¹Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

²Обласна клінічна лікарня ім. М.І. Пирогова

³Державна установа «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка
Національної академії медичних наук України»

Email: elenamelnykova@gmail.com

А н о т а ц і я

Матеріали і методи: В умовах експерименту авторами проведено дослідження на культурах мононуклеарів крові по визначенню цитокінових факторів запалення і регенерації у хворих з травмою лобної кістки (29 осіб) і практично здорових донорів (11 осіб). В сироватці крові методом ІФА визначали фактори запалення (інтерлейкін-1 β , γ -інтерферон), протизапальні фактори і регенерації (інтерлейкін-34 і трансформуючий фактор росту-TGF-1 β), під дією ремодулюючих кістковий матрикс і регенерацію препаратів – остеогенон і розчинного вітаміну D₃.

Результати та висновки: Встановлено, що остеогенон і аквадетрім (віт. D₃) позитивно впливають на продукцію цитокінів мононуклеарами крові хворих з травмами лобної кістки і знижують рівень продукції *in vitro* прозапальних і підвищують продукцію протизапальних цитокінів особливо при спільному застосуванні. Отримані дані обґрунтовують доцільність включення остеогенону і аквадетриму в комплексне лікування хворих з травмами лобної кістки.

Ключові слова: остеогенон, вітамін D₃, фронтально-базальна травма, інтерлейкін-1 β , інтерлейкін 10, γ -інтерферон, інтерлейкін-4, трансформуючий фактор росту TGF-1 β .

EXPERIMENTAL STUDIES OF HUMORAL FACTORS OF INFLAMMATION AND REGENERATION IN PATIENTS WITH INJURIES OF THE FRONTO-BASAL REGION

^{1,2}Bondarchuk OD, ³Melnikov OF, ³Timchenko MD, ²Didyk ND

¹National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

²M.I. Pirogov Regional Clinical Hospital, Vinnytsya, Ukraine

³State Institution "O.S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of National Academy
of Medical Science of Ukraine"

Email: elenamelnykova@gmail.com

A b s t r a c t

Materials and methods: Under the conditions of the experiment, the authors conducted research of mononuclear blood cultures were on the identification of cytokine factors of inflammation and regeneration in patients with frontal bone trauma (29 patients) and practically healthy donors (11 persons). Factors of inflammation (interleukin-1 β , γ -interferon), anti-inflammation and regeneration (interleukin-34 and transforming growth factor – TGF-1 β) were determined in the blood serum by ELISA, under the influence of medications that remodulate bone matrix and regeneration – osteogenon and soluble vitamin D₃.

Results and conclusions: It was found that the osteogenon and aquadetrim (vit. D₃) have a positive influence on the production of cytokines by blood mononuclears of the patients with FBT: they both decrease the level of production of inflammatory cytokines *in vitro* and increase the level of production of anti-inflammatory cytokines especially when used together. The received data prove the expediency of including osteogenon and aquadetrim in to the complex treatment of patients with frontal bone trauma.

Keywords: osteogenon, vitamin D₃, frontobasal injury, interleukin-1 β , interleukin 10, γ -interferon, interleukin-4, transforming growth factor TGF-1 β .