



Original Article: MORFOLOGICA MODIFICHE ANELLI FIBROSI DISCHI INTERVERTEBRALI E L'EQUILIBRIO DELLE CITOCHINE NELLE INFEZIONI CRONICHE DA STAFILOCOCCO

Citation

Zhurakovskiy I.P., Arkhipov S.A., Bithaeva M.V., Aidagulova S.V., Ishchenko I.Yu., Pustovetova M.G. Morfologica modifiche anelli fibrosi dischi intervertebrali e l'equilibrio delle citochine nelle infezioni croniche da stafilococco. *Italian Science Review*. 2014; 10(19). PP. 268-274.
Available at URL: <http://www.ias-journal.org/archive/2014/october/Zhurakovskiy.pdf>

Authors

Zhurakovskiy I.P., Novosibirsk State Medical University, Russia.
Arkhipov S.A., Novosibirsk State Medical University, Russia.
Bithaeva M.V., Novosibirsk State Medical University, Russia.
Aidagulova S.V., Novosibirsk State Medical University, Russia.
Ishchenko I.Yu., Novosibirsk State Medical University, Russia.
Pustovetova M.G., Novosibirsk State Medical University, Russia.

Submitted: October 15, 2014; Accepted: October 20, 2014; Published: October 31, 2014

In 18 ratti maschi Wistar tramite inoculazione ceppo 209 nella tibia di ratti Wistar è stata riprodotta osteomielite. Gli animali sono stati prelevati da esperimento 1, 2 e 3 mesi dopo il modello gioco. Come controllo, 6 animali intatti. Componenti della matrice extracellulare sono stati rilevati con tecniche istochimiche e immunoistochimiche. Le variazioni di compartimento delle cellule sono stati valutati a livello ultrastrutturale. Il siero è stato studiato il contenuto di citochine: IL-1 β , IL-1 β RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α , INF γ , TGF β 1.

1 mese dopo la creazione di un focolaio di infezione da stafilococco rivela il cambiamento di componenti della matrice extracellulare di anelli fibrosi. Più tardi, un glicosaminoglicani scambio malattia progressiva solfatate uniti cambiamenti di fibre di collagene. In risposta compensatoria ai cambiamenti progressivi di componenti della matrice extracellulare della cartilagine fibrosa può essere

considerato evidente aumento del contenuto di glicoproteine neutre attraverso le loro frazioni distinte, in particolare fibulin-2. Presso lo studio ultrastrutturale in condrociti / condroblasti anello fibroso ha rivelato una manifestazione parziale di autofagia e la riduzione dei processi di biosintesi. Identificare collegamenti tra anelli fibrosi distrofiche-degenerativa e il livello di citochine sieriche può spiegare l'effetto dell'infezione stafilococcica cronica sulla struttura del disco intervertebrale.

Parole chiave: dischi intervertebrali, anello fibroso, *Staphylococcus aureus*, cellule della matrice-produzione, la matrice extracellulare, studi ultrastrutturali, citochine.

Infezione da stafilococco da oltre 50 anni è uno dei problemi più importanti della scienza medica. L'infezione da ceppi meticillino-resistenti di *Staphylococcus aureus* occupa una posizione centrale tra le cause di morbidità e mortalità [1; 2].

Manifestazioni gravi di infezioni causate da stafilococchi, l'attenzione è pagato, con manifestazioni minori interazione macro- e micro-organismi non sono meno importanti, in particolare, mostra una relazione diretta tra l'infezione batterica persistente focale e lo sviluppo di alterazioni degenerative-distrofici nel disco intervertebrale di conigli [3]. È importante notare che i cambiamenti patologici nei dischi intervertebrali possono essere una delle manifestazioni dei distrofici-degenerativa sindrome cambiamenti di derivati mesenchimali nel processo infiammatorio cronico locale [4; 5].

Finalità - per studiare variazioni nella matrice extracellulare dell'anello fibroso dei dischi intervertebrali in una simulazione di una infezione da stafilococco.

Materiali e metodi

L'esperimento è stato condotto su 24 adulti Wistar ratti maschi di peso 180-220 g in 18 animali in anestesia generale per inalazione effettuate hanno trapanazione tibia seguito dal tampone del filo di cotone del foro, è situato a 30 minuti di scarico cultura durante la notte *Staphylococcus aureus* (ceppo 209). Studio preliminare ha rivelato che da questo trattamento il filo su esso conteneva 1×10^7 unità formanti colonie. Successivamente, i ratti hanno sviluppato osteomielite tibia. Gli animali sono stati prelevati dalla esperimento per decapitazione sotto anestesia eterea a 1, 2 e 3 mesi dopo il modello della riproduzione. Come controllo, 6 animali intatti. L'esperimento è stato eseguito nel rispetto dei principi di umanità, di cui le direttive della Comunità europea (86/609 / CEE) e la Dichiarazione di Helsinki sulla protezione degli animali vertebrati utilizzati per il laboratorio e per altri scopi.

Per gli studi istochimici dischi intervertebrali caudali sono stati fissati in formalina al 12% liquido. Sezioni di paraffina di spessore 7 micron sono state colorate con ematossilina e eosina Ehrlich; sono state rilevate fibre di collagene (pH 1,0), glicoproteine neutre - utilizzando MsManus PAS-reazione. Per chiarire la

natura delle modifiche della matrice extracellulare del disco intervertebrale utilizzando una tecnica immunoistochimica due fasi con primi anticorpi collagene I e II, fibronectina fibulinu-2 matrilinu-2. Ma ne abbiamo studiato componenti della matrice extracellulare, intensità di colorazione, e la densità integrata di proprietà tintoriali sono valutati utilizzando un sistema di analisi dell'immagine sulla base di un microscopio Micros MC 300A, 13c CX fotocamera digitale (ditta Baumer Optronik GmbH, Germania) e 1.42g software ImageJ (National Istituto Superiore di Sanità, Stati Uniti d'America). Ogni gruppo è stata valutata su 48 immagini, ciascuna zona era 21455 mkm².

Per la microscopia elettronica, i campioni sono stati fissati in refrigerate a C soluzione di paraformaldeide al 4 ° 4%, preparata a Milloniga tampone fosfato (pH = 7,4), postfissati in 1% di soluzione di tetrossido di osmio e poi disidratati in una serie di alcoli e incorporato in una miscela di acetone Epona e araldita. Le sezioni ultrasottili sono state in contrasto con una soluzione alcolica satura di acetato di uranile e citrato di piombo, e analizzati con un microscopio elettronico JEM-100S (CSRL Medical University NSMU MoH) e microscopio elettronico JEM-1400 (FGBU Istituto di ricerca di Fisiologia SB RAMS), fotografata con una fotocamera digitale e software Veleta iTEM (Olympus, Giappone).

Lo studio è stato condotto profilo citochinico serie di reagenti per immunoenzimatica determinazione della concentrazione di IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α , INF- γ , TGF- β 1 ("Bender MedSystems GmbH" Austria) e IL-1 β RA "Uscn life Science Inc." Cina) nel siero utilizzando Wellwasf 4 Mk2 e spettrofotometro Multiscan Spectrum ("Thermo Scientific", Finlandia).

Risultati e discussione

I risultati delle analisi morfometrica di indicatori che caratterizzano le variazioni della matrice extracellulare dell'anello fibroso del disco intervertebrale su sezioni

colorate con metodi istochimici rilevano fibre collagene, glicoproteine neutre e glicosaminoglicani solfati, sono riportati nella tabella 1. È abbastanza significativo è il fatto che entro 1 mese dopo la creazione della fonte di infezione stafilococcica in componenti ricerca tibia della matrice extracellulare dell'anello fibroso dei dischi intervertebrali, hanno rivelato una variazione statisticamente significativa l'intensità della colorazione e della densità integrata dei glicosaminoglicani solfati. Questo indica un coinvolgimento abbastanza presto nel processo patologico di proteoglicani che costituiscono il materiale amorfo dell'anello fibroso del disco intervertebrale. Nonostante il fatto che l'area che occupano non viene modificato, il contenuto di glicosaminoglicani solfati in unità di volume è significativamente diminuita, come evidenziato dalla diminuzione significativa ($p < 0.05$) della densità integrata. Queste osservazioni sono coerenti con il lavoro di [6; 7], indicando che i cambiamenti di glicosaminoglicani, proteoglicani appartenenti agli anelli fibrosi sono la caratteristica più costante di distrofici e alterazioni degenerative dei dischi intervertebrali.

Dobbiamo anche notare la modifica delle proprietà tintorie di glicoproteine neutre 1 mese dopo la riproduzione di un'infezione da stafilococco, che indica un cambiamento nel rapporto tra le loro singole frazioni. Ciò è stato confermato da uno studio immunostochimico (Tabella. 2). Pertanto, un aumento statisticamente significativo della densità sfondo integrato fibronectina fibulin-2 matrilin-2, il loro rapporto è stato 4,8 / 3,8 / 1, mentre gli animali intatti, questo rapporto era 6.4 / 3.3 / 1. Ciò riflette un aumento della percentuale di fibronectina nel materiale amorfo dell'anello fibroso ad 1 mese dopo la creazione di un modello di infezione stafilococcica. Dato il ruolo importante di questa glicoproteina nella formazione del collagene diventa chiaro dimostrato da noi

l'opportunità di aumentare la dimensione relativa di collagene di tipo I.

Successivamente, 2 mesi dopo la creazione della fonte di infezione stafilococcica nella tibia studio morfometrico istochimica e immunostochimica dei componenti della matrice extracellulare dell'anello fibroso dei dischi intervertebrali, ha mostrato una variazione statisticamente significativa tintoriale proprietà, densità integrato e l'intensità della colorazione delle fibre di collagene e glicoproteine neutre della matrice extracellulare (tab. 1), con le variazioni di glicoproteine neutre (rapporto fibronectina, fibulin-2 e matrilin-2 è 1,7 / 6,3 / 1) e il tipo predominante di collagene (il rapporto di collagene di tipo I e II è 1 / 5,1 mentre in animali intatti 2,9 / 1).

Degno di nota, a differenza della precedente, un decremento significativo (2,6 volte) la densità integrata di fibronectina, avvenuta in parallelo con una riduzione della densità integrata di collagene I e maggiore di collagene di tipo II.

Inoltre, rispetto al controllo, in modo significativo ($p < 0.05$) riduce l'intensità della colorazione, e 1,3 volte ridotta superficie relativa del glicosaminoglicani solfati.

È possibile che questi cambiamenti sono la prova di alterazioni fibrotiche dell'anello fibroso, in via di sviluppo entro 2 mesi dopo la riproduzione di un'infezione da stafilococco, che richiama l'attenzione allo studio delle alterazioni degenerative del disco intervertebrale [8].

Quando uno studio elettronico microscopico delle parti centrali ed esterne dell'anello fibroso del disco intervertebrale stati trovati cambiamenti organizzazione ultrastrutturale di elementi cellulari. Nelle regioni centrali dell'anello fibroso del 20% dei condrociti sono stati caratterizzati karyopyknosis, la proporzione crescente di eterocromatina nei nuclei in assenza di nucleoli, riduzione e alterazione degli organelli membrana, accompagnata da un significativo aumento della densità

elettronica della matrice citoplasmatica e la formazione di numerosi osmiophil cellule residue. Questi cambiamenti possono essere interpretate come una manifestazione di autofagia cellulare, che ad un certo punto può essere reversibile o portare alla morte dei condrociti.

Il resto degli elementi di cella di matrice produttrici popolazione dell'anello fibroso caratterizzata da un'attivazione compensatoria di funzioni biosintetici e di trasporto. Essi sono dominati da ovaletonda o condroblasti triangolari con un aumento dei compartimenti citoplasmatici di densità elettronica moderata contenente un nucleo con contorni irregolari, con pori nucleari avanzati e uno o due nucleoli. Perinucleare e alla periferia delle cellule erano situati tubuli irregolarmente dilatate rete polimorfica con contenuti granulari citoplasmatici rapidamente variabili densità elettronica. Dictyosome dell'apparato di Golgi è stato notevolmente ampliato, riempito di substrato fiocchi o omogenea. Le cellule unità di energia presentato limitati ai profili di rete citoplasmatici pochi mitocondri varie dimensioni, con Christie parallelo singolo e matrice densità uniforme. L'ultrastruttura di fibrille di collagene della matrice territoriale entro un raggio caratterizzato da differenze di osmiophil e la regolarità delle striature trasversali.

La popolazione di fibroblasti, dominante nelle regioni esterne dell'anello fibroso, ha subito cambiamenti simili organizzazione ultrastrutturale. Le caratteristiche distintive rispetto a chondroblasts, condrociti erano taglienti allungamento delle escrescenze citoplasmatici e la disponibilità di processo parziale di autofagia. Rispetto agli animali intatti, nella piastra esterna dell'anello fibroso è stato aumentato il numero dei microvasi di profili.

Studio di citochine (Tabella 3) dopo 2 mesi dall'inizio dell'esperimento permesso di determinare un aumento statisticamente significativo pro-infiammatorie (IL-1 β , IL-6, IL-17, IFN- γ) e anti-infiammatori (IL-1 β

RA, IL-4, IL-10) I componenti della difesa immunitaria, nonché riduzione del TGF- β .

Quando il comportamento della analisi di correlazione tra gli indicatori riflettono cambiamenti nella matrice extracellulare dei dischi intervertebrali e lo stato di citochine, i risultati indicano l'esistenza di una relazione altamente significativa ottenuta:

1) Positiva - tra la superficie relativa del solfato glicosaminoglicani anulus e la concentrazione di IL-1 β RA ($r = 0,943$; $p = 0,005$), e negativo - tra la superficie relativa del solfato glicosaminoglicani anulus e IL-6 ($r = -0.943$; $p = 0,005$);

Nella dinamica dell'esperimento, a 3 mesi dopo la creazione della fonte di infezione batterica persistente tibia, con lo studio morfometrico della matrice extracellulare del disco intervertebrale mostrato una progressiva diminuzione della superficie relativa e l'intensità della colorazione dei glicosaminoglicani solfati dell'anello fibroso. Tassi progressivamente ridotta superficie relativa delle fibre di collagene era significativamente ($p < 0.05$) ha aumentato la superficie relativa delle glicoproteine neutre. Molto probabilmente, le metaboliche solfatata glicosaminoglicani, e, quindi, proteoglicani, nel lungo corso dell'infezione stafilococcica, influenzano le proprietà viscoelastiche del disco intervertebrale [9]. Insieme variazioni della componente fibrosa, ulteriori sollecitazioni biomeccanico può provocare la formazione di ernie dei dischi intervertebrali. Questi dati confermano l'osservazione clinica dei sintomi che appesantiscono le manifestazioni della malattia degenerativa dei dischi intervertebrali e una scarsa prognosi dei pazienti con focolai di infiammazione cronica [4].

Quando uno studio al microscopio elettronico nelle regioni centrali ed esterne dell'anello fibroso del disco intervertebrale rilevato variazioni polimorfiche organizzazione ultrastrutturale degli elementi cellulari. In entrambe le parti dell'anello fibroso della popolazione dei condrociti e dei fibroblasti sono stati

caratterizzati da crescente eterogeneità causa di differenze di attività funzionale delle cellule residenti. Insieme a questo, le cellule sono state soddisfatte con segni di autofagia e necrobiosi parziale, che è più tipico per le parti centrali dell'anello fibroso.

È importante notare che nelle regioni esterne dell'anello fibroso contenente normali capillari sanguigni, contrassegnata aumento del numero di microvasi e dilatazione del loro lume. Alcuni periciti dedicati a lui diminuito rapporto nucleo-citoplasmatico, e si differenziano con l'acquisizione della organizzazione ultrastrutturale dei fibroblasti.

In generale, nonostante l'assunzione compensativa di cellule indifferenziate nel pool di elementi di matrice produttrice della parte esterna dell'anello fibroso, la tendenza generale di sviluppo di alterazioni degenerative dei dischi intervertebrali degli animali da esperimento è stato caratterizzato dalla progressione del processo patologico.

Analisi dei dati sperimentali a 3 mesi dopo la creazione della fonte di infezione batterica ha rivelato un aumento statisticamente significativo pro-infiammatorie (IL-17, IL-18, IFN- γ) e anti-infiammatori (IL-1 β , RA, IL-10) componenti della difesa immunitaria, così come significativo, rispetto agli animali intatti, riduzione del TGF- β . Nello svolgere una analisi di correlazione dei risultati ottenuti, indicando l'esistenza di un altamente significative connessioni negative: tra la superficie relativa delle fibre collagene fibroso e INF- γ ($r = -0.812$; $p = 0,050$), e tra la superficie relativa delle fibre collagene dell'anello fibroso e IL-17 ($r = -0.812$; $p = 0,050$);

Un fatto interessante è che le variazioni della densità integrata di collagene di tipo I e II viene osservato nel contesto di cambiamenti nell'espressione della fibronectina. È degno di nota perché il componente attivo della matrice extracellulare, unitamente integrine gioca

un ruolo importante nella formazione di fibrille di collagene [10].

Identificare collegamenti tra distrofici e cambiamenti degenerativi dei dischi intervertebrali e il livello di citochine sieriche possono avere una conferma dei dati sulla secrezione di mediatori proinfiammatori dai condrociti in condizioni patologiche [11; 12].

References:

1. Kleven R.M. 2007. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. Vol. 298. P. 1763-1771.
2. Green B.N. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview for manual therapists. Vol. 11. P. 64-76.
3. Komandenko N.I. 1998. Modeling of osteochondrosis of the spinal column. Vol. 125. P. 630-632.
4. Komandenko N.I. 2006. Osteochondrosis: Monograph. 246 p.
5. Zhurakovsky I.P. 2012. Secondary systemic disorganization of connective tissue as a manifestation of the syndrome of associated dystrophic-degenerative changes of mesenchymal derivatives: monograph. 168 p.
6. Fukuta S. 2011. Abundance of calpain and aggrecan-cleavage products of calpain in degenerated human intervertebral discs. *Osteoarthritis Cartilage*. Vol. 19. P. 1254-1262.
7. Gruber H.E. 2011. Variations in aggrecan localization and gene expression patterns characterize increasing stages of human intervertebral disk degeneration. Vol. 91. P. 534-539.
8. Zhao C.Q. 2007. The cell biology of intervertebral disc aging and degeneration. Vol. 6. P.247-261.
9. Miyamoto K. 2006. Intradiscal injections of osteogenic protein-1 restore the viscoelastic properties of degenerated intervertebral discs. P. 692-703.
10. Kadler K.E., Hill A., Canty-Laird E.G. 2008. Collagen fibrillogenesis: fibronectin, integrins, and minor collagens as organizers and nucleators. Vol. 20. P. 495-501.

11. Rand N. 1997. Murine nucleus pulposus-derived cells secrete interleukins-1-beta, -6, and -10 and granulocytemacrophage colony-stimulating factor in cell culture. Vol. 22. P. 2598-2602.

12. Yoshida M. 2005. Intervertebral disc cells produce tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, and monocyte chemoattractant protein-1 immediately after herniation: an experimental study using a new hernia model. Vol. 30. P. 55-61.

Tabella 1

Parametri morfometrici della matrice extracellulare dei dischi intervertebrali nella dinamica di una infezione da stafilococco (metodi di colorazione istochimica, M ± m)

Indice	Intatto	Infiammazione		
		1 mese	2 mesi	3 mesi
Le fibre di collagene:				
Area relativa (%)	78,55 ± 1,06	75,84 ± 0,82	73,61 ± 0,70*	66,73 ± 1,08*
L'intensità della colorazione (cu)	90,29 ± 1,17	85,53 ± 1,88	84,39 ± 1,60*	80,95 ± 2,39*
Il contenuto relativo (cu)	7094,7 ± 130,4	6451,2 ± 128,3*	6209,9 ± 131,0*	5337,1 ± 138,1*
Red-componente (cu)	187,91 ± 1,03	187,38 ± 0,94	173,63 ± 0,95*	151,21 ± 1,01*
Glicoproteine Neutral:				
Area relativa (%)	63,38 ± 1,31	64,82 ± 1,31	68,94 ± 0,93*	73,04 ± 0,91*
L'intensità della colorazione (cu)	16,02 ± 1,10	15,63 ± 0,65	19,31 ± 0,87*	23,85 ± 2,69
Il contenuto relativo (cu)	1042,6 ± 79,3	1013,1 ± 45,5	1332,6 ± 63,5*	1785,6 ± 206,9*
Red-componente (cu)	195,43 ± 1,85	188,15 ± 0,97*	184,44 ± 1,12*	169,16 ± 2,35*
Сульфатированные гликозаминогликаны:				
Area relativa (%)	81,73 ± 1,17	81,19 ± 0,90	63,48 ± 1,57*	40,01 ± 2,32*
L'intensità della colorazione (cu)	63,95 ± 2,26	49,67 ± 2,85*	43,79 ± 2,49*	27,55 ± 1,52*
Il contenuto relativo (cu)	5208,1 ± 184,4	4074,9 ± 233,4*	2766,5 ± 171,4*	1069,5 ± 79,7*
Blue-componente (cu)	187,38 ± 0,94	181,87 ± 1,82	178,97 ± 1,22*	151,90 ± 1,07*

* - Differenze statisticamente significative da animali intatti al livello di significatività del 95% (p < 0.05)

Tabella 2

Parametri morfometrici della matrice extracellulare dei dischi intervertebrali nella dinamica di una infezione da stafilococco (metodi di colorazione immunoistochimica, M ± m)

Indice	Intatto	Infiammazione			
		1 mese	2 mesi	3 mesi	
Anello fibroso dei dischi intervertebrali	Collagene di tipo I fibre:				
	Area relativa (%)	80,09±0,63	84,12±0,74*	88,16±0,54*	76,79±1,65
	Intensità di colorazione (cu)	28,38±1,34	26,63±1,57	7,84±0,49*	22,48±1,33*
	Il contenuto relativo (cu)	2264,5 ± 103,1	2230,0 ± 131,9	690,7 ± 43,6*	1663,6 ± 83,6*
	Collagene di tipo II fibre:				
	Area relativa (%)	89,32±1,24	67,10±0,83*	65,26±0,99*	77,34±0,80*
	Intensità di colorazione (cu)	8,69±0,88	50,70±0,67*	54,57±0,88*	51,27±0,57*
	Il contenuto relativo (cu)	788,1 ± 82,8	3399,0 ± 58,8*	3547,9 ± 65,7*	3976,8 ± 72,8*
	Fibronectina:				
	Area relativa (%)	73,11±0,81	78,70±0,69*	72,24±0,90	65,56±0,81*
	Intensità di colorazione (cu)	38,09±1,52	42,13±1,37	17,18±0,75*	17,03±1,27*
	Il contenuto relativo (cu)	2805,6 ± 127,0	3298,9 ± 102,4*	1247,2 ± 58,5*	1130,1 ± 85,4*
	Fibulin 2:				
	Area relativa (%)	67,02±1,11	67,75±1,11	83,22±0,92*	82,20±1,08*
	Intensità di colorazione (cu)	21,60±1,14	34,06±1,14	54,63±1,61*	77,34±1,41*
	Il contenuto relativo (cu)	1442,0 ± 80,5	2301,9 ± 85,0*	4522,6 ± 131,3*	6373,3 ± 164,3*
	Matrilin 2				
	Area relativa (%)	56,28 ± 2,36	68,29 ± 0,63*	69,75 ± 0,84*	63,69 ± 1,47*
Intensità di colorazione (cu)	9,54 ± 1,28	9,99 ± 0,22	11,23 ± 0,13*	26,20 ± 1,57*	
Il contenuto relativo (cu)	437,4 ± 51,8	681,4 ± 15,6*	782,5 ± 11,2*	1664,5 ± 106,8*	

* - Differenze statisticamente significative da animali intatti al livello di significatività del 95% (p < 0.05)

Tabella 3

La concentrazione di citochine nel siero degli animali da esperimento pg / ml (M ± m)

Indice	Intatto	Infiammazione	
		2 mesi	3 mesi
IL-1β	3,9±0,33	5,3±0,18*	3,9±0,19
IL-1β RA	110,3±8,56	179,1±9,97*	192,1±29,65*
IL-2	19,7±3,37	17,1±0,69	16,5±1,18
IL-4	3,2±0,05	4,1±0,33*	3,7±0,20*
IL-6	5,0±0,12	6,1±0,24*	5,6±0,30
IL-10	23,6±0,70	28,7±1,71*	26,9±1,30*
IL-17	16,5±0,46	21,4±1,11*	19,5±0,99*
IL-18	19,8±0,39	20,9±0,89	21,3±0,48*
IFN-γ	17,5±0,90	32,3±1,61*	21,6±1,27*
TGFβ	28,8±1,12	24,1±0,69*	22,3±0,36*
TNFα	5,8±0,21	5,8±0,18	6,1±0,09

* - Differenze statisticamente significative da animali intatti al livello di significatività del 95% (p < 0.05)