

ЦИТОКІНОВИЙ СПЕКТР СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ГОСТРОМУ ДЕСТРУКТИВНОМУ АПЕНДИЦИТІ

Національний медичний університет ім. Данила Галицького (м. Львів)

Робота виконана в рамках спільної міжкафедральної теми Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на базі хірургічного відділення Комунальної лікарні швидкої медичної допомоги «Розробка диференційної тактики лікування і профілактики моно- і поліорганної недостатності в ургентній абдомінальній хірургії», № держреєстрації 0110U002149, шифр теми ІН.2100.0002.

Вступ. В патогенезі гострого апендициту безпосередню участь приймає імунна система [1, 2, 8]. Протягом останніх років у центрі уваги фундаментальної та клінічної імунології перебуває вивчення цитокінів, як основних медіаторів імунної системи. Характерною особливістю цитокінів є їх функціональна плейотропія. Рівні цитокінів в сироватці крові віддзеркалюють функціональний стан імунної системи та можуть бути маркерами дизрегуляції. В сучасній літературі є багато даних про спряженість розвитку хірургічної інфекції з вираженими змінами в імунній системі, які мають характер вторинних імунодефіцитних станів, у формуванні яких беруть участь цитокіни, як регулятори [1, 2, 3, 9, 10]. Саме вони є диригентами реакцій, які спрямовані на попередження тканинної деструкції, ізоляції та знищення патогену, активації процесів репарації та відновлення гомеостазу.

Ініціація запалення контролюється прозапальними цитокинами до яких відносять фактор некрозу пухлини (TNF- α), IL-1, і IL-6. Імуносупресивні реакції контролюються IL-10, IL-2 [7]. Захисна роль прозапальних цитокінів проявляється у випадку, коли ці медіатори працюють локально в вогнищі запалення, однак високий системний їх рівень не є показником ефективності протиінфекційного імунітету. Надлишкова та генералізована продукція прозапальних цитокінів призводить до органних дисфункцій, що є причиною летальності хірургічних хворих [9].

Враховуючи синергізм та плейотропність дії інтерлейкінів, що беруть участь у запаленні, визначення концентрації лише одного з них не є достатнім для оцінки стану всього цитокінового балансу. Коректним є підхід, коли визначають хоча б по два інтерлейкіни із кожної групи.

Найскладнішою проблемою хірургії є діагностика гострих захворювань органів черевної порожнини, серед яких гострий апендицит посідає провідне місце [3, 4]. Гострий деструктивний апендицит

(флегмонозний та гангренозний) є однією з важливих причин виникнення абдомінального сепсису [1]. Ці форми апендициту мають свої морфологічні особливості які полягають у переважанні серед тканинних реакцій ексудативних і некротичних, неповноцінних репаративних процесів, як правило, на фоні вторинного імунодефіциту, що призводить до прогресування процесу та водночас до виникнення диференційно-діагностичних труднощів [1, 5]. Мінімум лабораторних досліджень для пацієнтів з ургентною абдомінальною патологією (загальні аналізи крові та сечі), потребує розширення меж лабораторного діагностичного пошуку.

Мета даного дослідження – визначити закономірність змін рівнів інтерлейкінів у хворих на деструктивні форми апендициту для поліпшення діагностики і вибору правильної стратегії лікування.

Об'єкт і методи дослідження. Для вивчення цитокінового профілю було проведено визначення рівнів IL-1 β , 2, 6, 10 та TNF- α у сироватці крові практично здорових осіб (20) та хворих на гостри апендицит. Було обстежено кров двох груп хворих: першу групу склали хворі на флегмонозний апендицит (ФА) (40 осіб), до другої групи обстежених увійшли хворі на гангренозний апендицит (ГА) (20 хворих). Середній вік обстежених становив 36,11 \pm 2,48 років. Визначення інтерлейкінів проводилось з допомогою набору реагентів для імуноферментного визначення концентрації інтерлейкінів в сироватці крові людини фірми «Diaclone» Франція.

Статистичне опрацювання результатів дослідження виконано із застосуванням методів параметричної (варіаційної) статистики з додержанням умов щодо оцінки типу розподілу. Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента. Для статистичної обробки матеріалу використовували комп'ютерний пакет програм STATISTICA 2006.

Результати досліджень та їх обговорення. Порівняльний аналіз рівнів досліджуваних цитокінів в обох групах хворих виявив значні відмінності (табл.).

В результаті наших досліджень виявлено виражене зростання рівня IL-1 β у групі хворих на ФА порівняно з групою здорових осіб (в 20 разів, P<0,05), у той час як у групі хворих на ГА концентрація цього цитокіну зросла лише вдвічі. IL-1 β є одним із цитокінів з дуже широким спектром медіаторних,

Рівні цитокінів при деструктивних формах гострого апендициту, $M \pm m$

Діагноз	Досліджувані інтерлейкіни				
	IL-1 β пг/мл	IL-6 пг/мл	TNF- α пг/мл	IL-2 пг/мл	IL-10 пг/мл
Практично здорові особи	4,86 \pm 0,9	5,87 \pm 0,49	4,97 \pm 0,18	0	1,56 \pm 0,14
Флегмонозний апендицит	106,01 \pm 9,5 P<0,05 P ₁ <0,05	52,12 \pm 3,03 P<0,05 P ₁ <0,05	19,62 \pm 1,0 P<0,05 P ₁ <0,05	0,3 \pm 0,01 P<0,05 P ₁ <0,05	4,4 \pm 0,35 P<0,05 P ₁ <0,05
Гангренозний апендицит	11,66 \pm 1,8 P<0,05	23,21 \pm 1,63 P<0,05	39,49 \pm 1,90 P<0,05	4,93 \pm 0,15 P<0,05	14,95 \pm 1,46 P<0,05

Примітка: P – вірогідність відмінності в порівнянні з показниками в контрольній групі (P<0,05); P₁ – вірогідність відмінності в порівнянні з показниками у хворих на ГА (P₁<0,05).

імунорегуляторних та загально біологічних властивостей [7]. IL-1 β продукується у вогнищі запалення і викликає цілий комплекс локальних та системних змін. Місцева дія IL-1 β скерована на активацію імункомпетентних клітин, стимуляцію функцій сполучної тканини і ендотелію. Системні прояви біологічної активності IL-1 β характеризують гострофазну відповідь організму [7, 11].

Таким чином, отримані нами результати виявили, що при гострому запальному процесі (такому як флегмонозний апендицит) рівень IL-1 β є значно вищим його рівня при хронічному запаленні (гангренозний процес).

Визначення концентрації IL-6 у групі хворих на ГА показали, що рівень IL-6 у 8 разів вірогідно (P<0,05) вищий, а у групі хворих на ГА вищий у 4 рази відносно контролю. Відомо, що IL-6 індукуює синтез гострофазних білків, які мають протизапальні властивості [7, 14], є регулятором розвитку і функціонування В- і Т-лімфоцитів [12]. Відмічається суттєва кореляція між активністю IL-6 і рівнями гострофазних білків при запальних станах різної етіології. IL-6 є важливим фактором протиінфекційного захисту [13].

Оскільки IL-6 проявляє властивості цитокіна, здатного стимулювати розвиток імунної відповіді та запалення, то з отриманих нами даних видно, що при гострому запальному процесі рівень IL-6 зростає, а при хронічному запаленні рівень цього інтерлейкіну є нижчим.

Встановлено, що при ГА спостерігаються вірогідно (P<0,05) вищі рівні IL-1 β та IL-6 у порівнянні з групою хворих на ГА.

Фактор некрозу пухлини (TNF- α) відіграє ключову роль в імунній і запальній реакціях організму і є активатором антитілозалежної цитотоксичності, що веде до пошкодження тканин [7]. Визначення рівня цього цитокіну має значення для оцінки імунного статусу при гострій патології загалом. При нормальній відповіді на будь-який інфекційний процес основним завданням TNF- α є захист організму від бактерій. У високих концентраціях TNF- α має властивість пошкоджувати тканини. Основними продуцентами фактору некрозу пухлини є моноцити і лімфоцити, які продукують TNF- α тільки у відповідь на дію

індуктора. Від індуктора залежить, який медіатор будуть виробляти клітини. Нашими дослідженнями показано, що рівень TNF- α збільшується при ГА у 4 рази, а при ГА у 8 разів вищий показників норми. Таке співвідношення рівнів цього інтерлейкіну в обстежених групах хворих, пояснюється тим, що TNF- α відноситься до прозапальних цитокінів і значне збільшення його продукції при гострому гангренозному запальному процесі є закономірним.

IL-10 відноситься до класу протизапальних цитокінів, продукується Т-хелперами 2 типу. Це ключовий інтерлейкін є інгібітором клітинної імунної відповіді та стимулятором гуморальної імунної відповіді. Концентрація IL-10 в сироватці крові хворих на ГА зростає вдвічі, а у групі хворих на ГА – у 9,5 разів відносно групи здорових осіб (P<0,05). Спостерігається більш виражене вірогідне (P<0,05) зростання концентрації IL-10 при ГА порівняно з ГА. На нашу думку, таке співвідношення рівнів IL-10 є свідченням хронізації запального процесу при ГА.

Іншим ключовим імунорегуляторним цитокіном є IL-2. Він відіграє важливу роль в реалізації механізмів імунної відповіді, продукується Т-хелперами 1 типу та є індуктором проліферації Т-клітин, дозрівання Т-цитотоксичних, проліферацію та дозрівання В-лімфоцитів, посилює функцію НК-клітин, моноцитів, стимулює продукцію g-інтерферону, TNF- α , IL-6, IL-8. В результаті нашого дослідження видно, що рівень IL-2 при ГА є в 16 разів вищим ніж при ГА, що є свідченням активації цитотоксичної активності лімфоцитів при хронічному запальному процесі.

Отже, при ГА переважає зростання рівня прозапальних інтерлейкінів (IL-1 β , IL-6), надлишкова продукція яких сприяє поширенню деструкційних процесів червоподібного відростка.

При ГА спостерігається більш виражене зростання IL-10, який синтезується на пізніх стадіях запалення і пригнічує продукцію прозапальних цитокінів. Поява в сироватці крові IL-2 свідчить про активацію цитотоксичних клітинних реакцій при ГА, а при хронічному процесі при ГА його рівень значно вищий ніж у здорових осіб.

Поряд із змінами концентрацій окремих цитокінів двох протилежних груп медіаторів запалення зроблена спроба проаналізувати їх співвідношення.

Так співвідношення IL-1/IL-10 у здорових осіб становило 3,11, у хворих на ФА – 24,09, у групі ГА – 0,77. З такою ж тенденцією змінюється співвідношення IL-6/IL-10. Отримані дані свідчать про зміщення цитокінового балансу в бік прозапальних медіаторів у групі ФА та в бік протизапальних медіаторів у групі з ГА. При гангренозному апендициті запальний процес набуває хронічного характеру зі значною імуносупресією: протизапальні медіатори значно переважають над прозапальними порівняно з показником у здорових.

Таким чином, рівень цитокінів корелює зі важкістю деструкційних процесів червоподібного відростка, а одномоментне визначення рівнів прозапальних (IL-1 β , IL-6, TNF- α) та протизапальних (IL-2, IL-10) цитокінів є важливими параметрами для визначення стану імунної системи, для діагностики та диференційної діагностики деструктивних форм гострого апендициту.

Висновки.

1. У хворих на флегмонозний апендицит рівень прозапальних (IL-1 β , IL-6,) цитокінів значно вищий ніж у хворих на гангренозний апендицит.

2. При гангренозному апендициті рівень TNF- α є значно вищим порівняно з флегмонозною формою апендициту.

3. У хворих на гангренозний апендицит рівень протизапальних (IL-2, IL-10) інтерлейкінів є вірогідно вищим ніж у хворих на флегмонозний апендицит.

4. Одночасне визначення рівнів прозапальних та протизапальних цитокінів є перспективним прогностичним дослідженням, що може бути використане для диференційної діагностики деструктивних форм апендициту.

Перспективами подальших досліджень є продовження вивчення особливостей цитокінової регуляції запального процесу при деструктивному апендициті.

Список літератури

1. Видовий склад та популяційний рівень мікрофлори хробакоподібного відростка хворих на абдомінальний сепсис у наслідок деструктивного апендициту / В. П. Польовий, Р. І. Сидорчук, А. С. Паляниця [та ін.] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Том X, №4 (38). – С. 182.
2. Гумен А. В. Цитотоксическая активность натуральных киллерных клеток селезенки крыс при стрессе и ее коррекция короткими иммуномодулирующими пептидами / А. В. Гумен, С. Н. Шанин, И. А. Козинец // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5, №2. – С. 37-41.
3. Гончар М. Г. Діагностична лапароскопія у диференціальній діагностиці гострого апендициту / М. Г. Гончар, О. В. Пиптюк, О. Ю. Атаманюк // Український Журнал Хірургії. – 2009. – №2. – С. 41-42.
4. Досвід діагностики гострого апендициту / О. І. Сопко, Р. М. Козубович, І. М. Молнар [та ін.] // Хірургія України. – 2006. – №3. – С. 98-102.
5. Жученко О. П. Прогностична динаміка основних невідкладних хірургічних захворювань за 13 років та її соціально-медична значущість / О. П. Жученко // Клінічна хірургія. – 2001. – №1. – С. 48-49.
6. Жидовинов А. А. Значение лабораторных маркеров эндотоксикоза и цитокинового профиля в диагностике и эффективности лечения осложненных форм острого холецистита / А. А. Жидовинов, В. А. Зурнаджянц, Г. И. Жидовинов // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5, №3. – С. 27-33.
7. Кетлинский С. А. Эндогенные иммуномодуляторы / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев, А. А. Воробьев. – СПб: Гиппократ, 1992. – 256с.
8. Томашук И. П. Острый аппендицит / И. П. Томашук, И. И. Томашук. – Київ: Здоров'я, 1998. – 96 с.
9. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией / А. А. Останин, О. Ю. Леплина, М. А. Тихонова [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2002. – №1.
10. Andersson R. E., Hugander A., Ravn H. Repeated clinical and laboratory examination in patients with equivocal diagnosis of appendicitis // World J. Surg. – 2000. – 24, №4. – P. 479-485
11. Dinarello C. A. Biologic basis for interleukin-1 in disease / C. A. Dinarello // Blood 1996; 6: 2095-2147.
12. Fantuzzi G. Defective inflammatory response and cytokine synthesis in IL-1 β deficient mice / G. Fantuzzi, R. Faggioni, M. Sironi // Cytokine 1995; 7: 608-615.
13. Hirano T. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis / T. Hirano, T. Matsuda, M. Turner // Eur J. Immunol 1988; 18: 1797-1801.
14. Kudo C. Inhibition of IL-8-induced W3/25+ (CD4+) T lymphocyte recruitment into subcutaneous tissues of rats by selective depletion of in vivo neutrophils with a monoclonal antibody / C. Kudo, A. Araki, K. Matsushima // J. Immunol 1991; 147: 2196-2201.

УДК 617.55-002.5-07:616.346.2-002-036

ЦИТОКІНОВИЙ СПЕКТР СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ГОСТРОМУ ДЕКТРУКТИВНОМУ АПЕНДИЦИТІ

Акімова В. М.

Резюме. Вивчалися рівні прозапальних (IL-1 β , IL-6, TNF- α) та протизапальних (IL-2, IL-10) цитокінів у хворих на флегмонозний та гангренозний апендицит. Встановлено, що рівень досліджуваних прозапальних цитокінів більш виражено зростає у хворих з гострим запальним процесом (флегмонозний апендицит). Рівень досліджуваних протизапальних цитокінів більш виражено зростає у хворих хронічними запальними процесами (гангренозний апендицит). Таке співвідношення рівнів цитокінів може служити маркером для диференційної діагностики гострих і хронічних запальних процесів у черевній порожнині.

Ключові слова: цитокіни, запальні процеси, гострий гангренозний апендицит, гострий флегмонозний апендицит, імунодіагностика.

УДК 617. 55-002. 5-07: 616. 346. 2-002-036

ЦИТОКИНОВЫЙ СПЕКТР СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ОСТРОМ ДЕСТРУКТИВНОМ АППЕНДИЦИТЕ

Акимова В. Н.

Резюме. Изучались уровни провоспалительных (IL-1 β , IL-6, TNF- α) и противовоспалительных (IL-2, IL-10) цитокинов у больных флегмонозным и гангренозным аппендицитом. Установлено, что уровень исследуемых провоспалительных цитокинов более выражено возрастает у больных острым воспалительным процессом (флегмонозный аппендицит). Уровень исследуемых противовоспалительных цитокинов более выражено возрастает у больных хроническими воспалительными процессами (гангренозный аппендицит). Такое соотношение уровней цитокинов может служить маркером для дифференциальной диагностики острых и хронических воспалительных процессов в брюшной полости.

Ключевые слова: цитокины, воспалительные процессы, острый гангренозный аппендицит, острый флегмонозный аппендицит, иммунодиагностика.

UDC 617. 55-002. 5-07: 616. 346. 2-002-036

Cytokine Spectrum Of Blood Serum In Acute Destructive Appendicitis

Akimova V.

Summary. The concentration of pro-inflammatory (IL-1 β , IL-6, TNF- α) and anti-inflammatory (IL-2, IL-10) cytokines in patients with phlegmonous and gangrenous appendicitis were studied. The level of pro-inflammatory cytokines studied increase more pronounced in patients with acute inflammation (phlegmonous appendicitis). The level of anti-inflammatory cytokines increase more pronounced in patients with chronic inflammatory diseases (gangrenous appendicitis). Such a ratio of cytokine may be a marker for the differential diagnosis of acute and chronic inflammation of the abdominal cavity.

Key words: cytokines, inflammation, acute gangrenous appendicitis, acute phlegmonous appendicitis, immunodiagnosis.

Стаття надійшла 24.09.2012 р.

Рецензент – проф. Малик С. В.