

ОСОБЕННОСТИ ИНТЕРЛЕЙКИНОВОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ С АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

Влада Арнольдовна ВАЛЕЕВА¹, Анатолий Васильевич ЕФРЕМОВ¹,
Инесса Викторовна БЕРКАСОВА^{1,2}, Елена Ивановна СТРЕЛЬЦОВА^{1,2}

¹ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

²ГБУЗ НСО Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

Проведен сравнительный анализ содержания цитокинов α в сыворотке крови у больных с перитонитом/абдоминальным сепсисом на этапах интенсивной терапии. Исследованы уровни ИЛ-1 β , ИЛ-1 Ra, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, фактора некроза опухоли (ФНО) в 1-е, 3-и и 7-е сутки после проведения экстренного хирургического вмешательства. Выявлено резкое повышение концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-8 в первые сутки заболевания и их постепенное снижение к 7-м суткам наблюдения. Изменения уровней ИЛ-2 и ИЛ-4 были менее выражены. Содержание рецепторного антагониста к ИЛ-1 в сыворотке крови медленно нарастало к 7-м суткам, оставаясь в диапазоне нормальных популяционных значений. На основании полученных данных сделан вывод о необходимости исследования цитокинового профиля у больных для патогенетически обоснованной терапии сепсиса.

Ключевые слова: абдоминальный сепсис, интерлейкины, ИЛ-1 β , ИЛ-1 Ra, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО α .

Безусловным достижением медицины конца XX века стала предложенная Bone R. и другими исследователями концепция «воспаления всего тела», или «системной воспалительной реакции» (СВР, SIRS), возникающего в ответ на бактериальную инвазию, ишемию/реперфузию, травму, ожог и другие факторы агрессии [1]. СВР характеризуется активацией фагоцитов (макрофагов/моноцитов, гранулоцитов) и других иммунокомпетентных клеток, что приводит к повышенной генерации свободных радикалов, интерлейкинов, протеиназ, дериватов арахидоновой кислоты провоспалительного действия, активации системы комплимента, свертывающей системы крови [2, 3].

В настоящее время системная воспалительная реакция может рассматриваться как типовой патологический процесс, развивающийся при воздействии множества стимулов, а в особенности при их сочетании, т. е. так называемом «двойном ударе» (double impact), сочетании факторов агрессии, каждый из которых способен вызвать развитие системной воспалительной реакции. Важнейшим из подобных факторов считают ишемию тканей

вследствие гиповолемии и гипоперфузии после кровопотери, стресса, манипуляций в жизнеопасных зонах, использования анестетиков с гипотензивным эффектом, анафилактических реакций, кардиогенного шока и др.

Ключевую роль в развитии системного воспаления любой этиологии играют интерлейкины — индукторы и регуляторы иммунного ответа. Вне воспалительной реакции и иммунного ответа цитокины в крови содержатся в чрезвычайно малом количестве. Усиленный синтез цитокинов начинается в ответ на проникновение в организм микроорганизмов или повреждение тканей [1]. Одним из наиболее сильных индукторов синтеза цитокинов служат компоненты клеточных стенок бактерий: липополисахариды, пептидогликаны и мурамилдипептиды [4, 5]. В зависимости от характера воздействия на воспалительный процесс цитокины подразделяют на две большие группы: провоспалительные (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α , интерферон γ) и противовоспалительные (ИЛ-4, ИЛ-10, рост-трансформирующий фактор β) [6], хотя это деление во многом условно.

Валеева В.А. — к.м.н., доцент кафедры анестезиологии-реаниматологии ФПК и ППВ,
e-mail: vavaleeva@mail.ru

Ефремов А.В. — чл.-корр. РАМН, д.м.н., проф., заведующий кафедрой патофизиологии
и клинической патофизиологии, e-mail: eav48@yandex.ru

Беркасова И.В. — к.м.н., ассистент кафедры анестезиологии-реаниматологии ФПК и ППВ;
врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, e-mail: ness-24@yandex.ru

Стрельцова Е.И. — ассистент кафедры анестезиологии-реаниматологии ФПК и ППВ;
врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации

Кроме того, имеются регуляторные системы, которые инактивируют уже высвобожденные цитокины. К ним относится антипротеазная система [7], которая совместно с сывороточными гидролазами осуществляет контроль над распределением, активностью и разрушением серии цитокинов (ФНО β , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, интерферон, колониестимулирующие факторы).

Важно отметить, что защитная роль провоспалительных цитокинов проявляется тогда, когда эти медиаторы работают локально, в очаге воспаления, однако их системная продукция не означает высокую эффективность противоинфекционного иммунитета. Напротив, полагают, что избыточная и генерализованная продукция провоспалительных цитокинов приводит к развитию бактериально-токсического шока и органных дисфункций, что является причиной ранней летальности хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями и осложнениями [8, 9].

В то же время при большом количестве исследований, посвященных изучению роли изменения цитокинового профиля при септических процессах различной этиологии, отмечается противоречивость данных [9–11]. Отсутствует единый взгляд на выраженность, динамику и значение интерлейкинового ответа при заболеваниях, сопровождающихся развитием системной воспалительной реакции. Во многих работах, например, отмечаются неблагоприятные исходы септических процессов, связанные с Т-клеточной дисфункцией вследствие смещения цитокинового баланса в сторону противовоспалительных медиаторов [12].

Целью нашего исследования было сравнение динамики изменений уровней интерлейкинов в плазме крови больных с SIRS в процессе хирургического лечения острой патологии органов желудочно-кишечного тракта.

Материал и методы

Всего обследовано 33 больных в возрасте от 20 до 70 лет, оперированных по поводу острой патологии органов желудочно-кишечного тракта. В группу включены больные с интраоперационно подтвержденным диагнозом перитонит/абдоминальный сепсис различной этиологии (21 мужчина, 12 женщин). Диагноз сепсиса выставлялся на основании наличия признаков SIRS по рекомендациям, предложенным в 1992 г. согласительной конференцией Американского колледжа пульмонологов (ACCP) и Общества специалистов критической медицины (SCCM), выделения возбудителя из различных локусов организма и прокальцитонинового теста [1]. Всем больным после экстренного оперативного вмешательства проводилась стандартная терапия в отделении реанимации и интенсивной те-

рапии по рекомендациям международного протокола лечения сепсиса/SIRS.

Критериями исключения были возраст старше 70 лет, онкологические заболевания, туберкулез, хроническая сердечная недостаточность 3-й степени, тяжелая хроническая почечная недостаточность. Всем пациентам обеспечено анестезиологическое пособие на основе тотальной внутривенной или ингаляционной анестезии.

Исследование для оценки уровней интерлейкинов ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО α и рецепторного антагониста интерлейкина ИЛ-1 Ra в сыворотке крови проводили в 1-е сутки, на 3-и и 7-е сутки заболевания (соответственно первый, второй и третий этапы наблюдения). Использовали твердофазный иммуоферментный метод с помощью тест-систем (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург) в соответствии с рекомендациями производителя.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных нами исследований в общем согласуются с данными литературы о напряжении интерлейкинового ответа при острой хирургической патологии органов желудочно-кишечного тракта. Тем не менее выявлены значительные различия в динамике изменений уровней про- и противовоспалительных интерлейкинов на этапах лечения у больных с перитонитом (табл.).

Так, концентрация ИЛ-1 β в 1-е сутки была значительно повышена и составила $201,79 \pm 27,40$ пг/мл. Затем содержание ИЛ-1 β в плазме крови постепенно снижалось и на седьмые сутки наблюдения было в 4,4 раза меньше исходного ($p \leq 0,001$ по сравнению с первым этапом, $p \leq 0,001$ по сравнению со вторым этапом), при этом оставаясь намного выше, чем у доноров ($14-16$ пг/мл по литературным данным) [13].

Уровень ИЛ-2 у больных в 1-е сутки составил $95,20 \pm 14,10$ пг/мл, к третьим суткам наблюдалась тенденция к его снижению. В дальнейшем уменьшение содержания ИЛ-2 продолжалось, и на 7-е сутки его концентрация в плазме крови достоверно снизилась (на 59,6 % по сравнению с первым этапом, $p \leq 0,01$) (см. табл.).

Похожая динамика наблюдалась и при исследовании содержания ИЛ-4. Надо отметить, что повышение уровня этого цитокина, отмечаемое в 1-е сутки (см. табл.), было не столь выражено, как для ИЛ-1 β , ФНО α и ИЛ-2, и составило $29,42 \pm 2,06$ пг/мл, в то время как у

Таблица

Динамика изменений содержания цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови у больных с абдоминальным сепсисом на этапах исследования ($M \pm m$)

Содержание цитокина	Этап исследования		
	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
ИЛ-1 β	201,79 \pm 27,40	113,08 \pm 19,50*	45,07 \pm 7,60***
ИЛ-1 Ra	306,05 \pm 31,90	390,10 \pm 56,20	388,04 \pm 33,90*
ИЛ-2	95,20 \pm 14,10	80,77 \pm 15,20	56,08 \pm 5,08*
ИЛ-4	29,42 \pm 2,06	27,35 \pm 2,53	22,34 \pm 1,28*
ИЛ-8	285,11 \pm 46,03	251,23 \pm 47,43	157,50 \pm 47,43*
ФНО α	159,77 \pm 19,39	93,84 \pm 12,07*	32,29 \pm 5,84***

Примечание. Достоверное ($p \leq 0,05-0,01$) отличие от соответствующего показателя: * — на 1-е сутки исследования, ** — на 3-и сутки исследования.

здоровых доноров средние значения содержания ИЛ-4 — 6,9 пг/мл, диапазон в норме — 0–20 пг/мл. К 3-м суткам концентрация ИЛ-4 практически не изменялась, а к 7-м суткам отчетливо снижалась ($p \leq 0,05$ по сравнению с первым этапом).

Уровень ИЛ-8 (см. табл.) у больных с сепсисом/перитонитом был необычайно высок — 285,11 \pm 46,03 пг/мл в 1-е сутки наблюдения, в отличие от здоровых людей у которых в сыворотке крови ИЛ-8 выявляется крайне редко. Диапазон концентраций ИЛ-8 у доноров по литературным данным составляет 0–34 пг/мл, среднее — 2 пг/мл, диапазон в норме — 0–10 пг/мл [7]. В обследованной нами группе больных резко повышенный уровень интерлейкина-8 сохранялся в течение практически всего периода наблюдения, и лишь к 7-м суткам отмечалось некоторое его снижение ($p \leq 0,05$ по сравнению с первым этапом).

Также отмечалось выраженное повышение концентрации ФНО α (см. табл.) в острую фазу заболевания. В первые сутки этот показатель равнялся 159,77 \pm 19,39 пг/мл (диапазон концентраций ФНО α у доноров составил 0–6 пг/мл, среднее — 1,5 пг/мл) [13]. К 3-м суткам содержание исследуемого интерлейкина снижалось по сравнению с первым этапом в 1,7 раза ($p \leq 0,001$), а к 7-м — в 5 раз ($p \leq 0,001$).

Изменение содержания противовоспалительного антагониста рецепторов к ИЛ-1 позволило выявить противоположную динамику (см. табл.). Так, в 1-е сутки уровень ИЛ-1 Ra у пациентов с перитонитом составил 306,05 \pm 31,90 пг/мл и к 7-м суткам он достоверно увеличился ($p \leq 0,05$). В норме диапазон содержания ИЛ-1 Ra — 50–

1000 пг/мл. Интересно отметить, что у некоторых больных (6 человек, 3 из которых впоследствии умерли) уровень ИЛ-1 Ra изначально был необычайно высоким (1000–6000 пг/мл), а в ходе наблюдения содержание антагониста у этих пациентов прогрессивно снижалось.

Заключение

Проведенные исследования выявили существенные различия в динамике изменений содержания различных цитокинов у больных с сепсисом/перитонитом. Так, изначально резкое повышение содержания ФНО α , ИЛ-1 β , индуцирующего хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов, дифференцировку и пролиферацию В-клеток, и ИЛ-2, стимулирующего пролиферацию В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов, является, вероятно, прямым ответом на бактериальную инвазию. Дальнейшее многократное снижение в течение 7 суток содержания этих маркеров в крови больных на фоне проводимой терапии свидетельствует, скорее всего, о разрешении острофазового процесса, постепенной элиминации возбудителя и отсутствии стимула для дальнейшей гиперпродукции провоспалительных цитокинов.

В то же время увеличивается синтез ИЛ-1Ra, который подавляет биологическую активность ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , конкурируя с ними за связывание с клеточным рецептором.

Клинически значимым представляется выявленное нами резкое повышение содержания ИЛ-8, относящегося к группе хемокинов, основное свойство которых — обеспечивать хемотаксис в зону воспаления различных типов клеток: нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов и Т-клеток.

Обращает на себя внимание отсутствие выраженной динамики изменения содержания этого интерлейкина у больных с тяжелым сепсисом/перитонитом в течение периода наблюдения. Известно, что ИЛ-8 — индуцибельный белок. Его продукция начинается под воздействием митогенов или эндогенных регуляторов: ИЛ-1, ИЛ-3, ФНО α , и др. ИЛ-8 усиливает «липкость» нейтрофилов, изменяя экспрессию различных молекул адгезии. Очевидно, способность ИЛ-8 вызывать миграцию клеток и усиливать их прилипание определяет его роль на этапах острой воспалительной реакции при сепсисе в течение всего периода присутствия патогенного возбудителя в организме.

Анализируя выявленные различия, можно предположить, что выраженность и динамика цитокинового ответа связаны с характером, продолжительностью и силой агрессивного повреждающего фактора. Для своевременной и объективной оценки глубины системного воспалительного ответа, его стадии и возможности коррекции необходимо внедрение в рутинную клиническую практику анализа цитокинового профиля, особенно с учетом быстро развивающихся в последнее время патогенетических методов терапии сепсиса.

В целом же полученные данные, как нам кажется, ставят перед исследователями новые, важные в практическом отношении, вопросы.

1. Если у части критических больных синдром системного воспалительного ответа, по видимому, регрессирует самостоятельно после устранения причины и проведения стандартной интенсивной терапии, требуется ли дополнительное вмешательство, направленное на купирование избыточной провоспалительной реакции?

2. Интерлейкиновый ответ на любую агрессию — динамичный, быстро меняющийся процесс. На что следует направлять воздействие у конкретного больного в определенный момент заболевания: на ограничение гипервоспаления или ликвидацию иммунного паралича? Иными словами, каковы возможности современной экспресс-диагностики этих состояний для лечащего врача в клинической практике?

Список литературы

1. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B. et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine // *Chest*. 1992. 101. 1644–55.

2. Marshall J.C., Vincent J.L., Fink M.P. et al. Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada,

October 25–26, 2000 // *Crit. Care Med*. 2003. 31. 1560–1567.

3. Fisher C.J. Jr, Opal S.M., Dhainaut J.F. et al. Influence of an anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody on cytokine levels in patients with sepsis. The CB0006 Sepsis Syndrome Study Group // *Crit. Care Med*. 1993. 21. 318–327.

4. Ayala A., Deol Z.K., Lehman D.L. et al. Polymicrobial sepsis but not low-dose endotoxin infusion causes decreased splenocyte IL-2/IFN- γ release while increasing IL-4/IL-10 production // *J. Surg. Res*. 1994. 56. 579–585.

5. Hotchkiss R.S., Karl E.I. The pathophysiology and treatment of sepsis // *New Engl. J. Med*. 2003. 348 (2). 138–150.

6. Михайленко А.А., Коненков В.И., Базанов Г.А., Покровский В.И. Руководство по клинической иммунологии, аллергологии, иммуногенетике и иммунофармакологии. Т. 1. М.; Тверь, 2005.

Mikhailenko A.A., Konenkov V.I., Bazanov G.A., Pokrovsky V.I. Manual of clinical immunology, allergology, immunogenetics and immunopharmacology. Vol. 1. M.; Tver, 2005.

7. Cabioglu N., Bilgic S., Deniz G. et al. Decreased cytokine expression in peripheral blood leukocytes of patients with severe sepsis // *Arch. Surg*. 2002. 137 (9). 1037–1043.

8. Marti L., Cervera C., Filella X. et al. Cytokine-release patterns in elderly patients with systemic inflammatory response syndrome // *Gerontology*. 2007. 53. 239–244.

9. Oberholzer A., Souza S.M., Tschoeke S.K. et al. Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis // *Shock*. 2005. 23. 488–493.

10. Bozza F.A., Salluh J.I., Japiassu A.M. et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis; a multiplex analysis // *Crit. Care* 2007. 11. 49.

11. Kellum J.A., Kong L., Fink M.P. et al. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study // *Arch. Intern. Med*. 2007. 167. 1655–1663.

12. Jedynak M., Siemiatkowski A. The role of monocytes/macrophages and their cytokines in the development of immunosuppression after severe injury // *Pol. Merkuriusz Lek*. 2002. 13 (75). 238–241.

13. Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А., Тимофеева Н.В., Рукавишников М.Ю. Определение цитокинов методом иммуноферментного анализа // *Новости «Вектор-Бест»*. 2004. 4. http://www.vector-best.ru/nvb/st34_4.htm.

Ryabicheva T.G., Varaksin N.A., Timofeeva N.V., Rukavishnikov M.Yu. Cytokine evaluation by immunoenzyme method // *Novosti «Vektor-Best»*. 2004. 4. http://www.vector-best.ru/nvb/st34_4.htm.

FEATURES OF CYTOKINE RESPONSE IN PATIENTS WITH ABDOMINAL SEPSIS

Vlada Arnoldovna VALEEVA¹, Anatoliy Vasilevich EFREMOV¹,
Inessa Victorovna BERKASOVA^{1,2}, Elena Ivanovna STRELTSOVA^{1,2}

¹*Novosibirsk State Medical University of Roszdrav
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

²*Novosibirsk State Regional Clinical Hospital
630087, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 130*

The comparative analysis of the contents of cytokines in patients with peritonitis / abdominal sepsis at stages of intensive therapy has been performed. The levels of IL-1 β , IL-1 Ra, IL-2, IL-4, IL-8, TNF α at 1, 3 and 7 days after emergency surgery are investigated. Sharp increase in the concentration of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , TNF α , IL-8 at the first day of the disease, and their gradual decrease to 7 days of observation is revealed. Changes in levels of IL-2 and IL-4 were less pronounced. Contents of receptor antagonist to IL-1 grew slowly to the seventh day, staying in the range of normal population values. Based on these data the conclusion of necessity of the patients' cytokine profile investigation has been made for pathogenetically substantiated therapy of sepsis.

Key words: abdominal sepsis, interleukins, IL-1 β , IL-1 Ra, IL-2, IL-4, IL-8, TNF α .

Valeeva V.A. — candidate of medical sciences, assistant professor of the chair of anesthesiology and critical care medicine of the faculty of professional skill upgrading of doctors, e-mail: vavaleeva@mail.ru

Efremov A.V. — corresponding member of RAMS, MD, professor, head of the chair for pathophysiology and clinical pathophysiology, e-mail: eav48@yandex.ru

Berkasova I.V. — candidate of medical sciences, assistant of the chair of anesthesiology and critical care medicine of the faculty of professional skill upgrading of doctors, anesthesiologist-resuscitator of department of anesthesiology and resuscitation, e-mail: ness-24@yandex.ru

Streltsova E.I. — assistant of the chair of anesthesiology and critical care medicine of the faculty of professional skill upgrading of doctors, anesthesiologist-resuscitator of department of anesthesiology and resuscitation