

Дж. Н. Гаджиев, А. Г. Гусейналиев, Э. Г. Тагиев, Л. Р. Талышинская, Н. Дж. Гаджиев

ОЦЕНКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КАЛЬКУЛЕЗНЫМ ХОЛЕЦИСТИТОМ

Азербайджанский медицинский университет, г. Баку

Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) является одним из самых распространенных заболеваний и встречается у 10–15% взрослого населения [1, 2]. Число больных каждые 10 лет удваивается [3], параллельно этому увеличивается частота осложненных форм ЖКБ. В структуре острой хирургической патологии органов брюшной полости острый калькулезный холецистит (ОКХ) занимает второе место после острого аппендицита [4].

Несмотря на определенные успехи в лечении ОКХ, частота послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений остается достаточно высокой — до 12,6% [5]. Высокая частота послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений обусловлена углублением еще до операции имеющихся существенных нарушений в иммунной системе больных и срывом противоинфекционной защиты в результате хирургической агрессии [6]. Согласно современным взглядам воспалительный процесс развивается при участии цитокинов [7] и индукция их синтеза определяет характерные события раннего воспалительного ответа [8, 9]. Цитокины в той или иной степени могут оказывать на фоне воспаления системное действие, которое саногенно при малой и умеренной интенсивности и высокопатогенно — при большой [10].

Как известно, цитокины — многочисленные растворимые медиаторы — низкомолекулярные гликопротеины, секретируемые преимущественно активированными клетками иммунной системы, осуществляют в организме многочисленные функции, в частности, способствуют распознаванию антигенов, повышают экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости и молекул адгезии, вызывают активацию, пролиферацию и дифференцировку клеток иммунной системы, способствуют формированию клеток-эффекторов и тем самым определяют особенности формирования иммунного ответа [11, 12]. Пролиферация, дифференцировка, апоптоз, специализированная функциональная активность клеток протекает под их контролем [8]. Цитокины как «новая самостоятельная система саморегуляции» иммунитета тесно связаны с нервной и эндокринной системами гомеостаза [12].

По современным представлениям инициация и основные этапы развития воспалительного процесса связаны с провоспалительными цитокинами. Провоспалительные цитокины, способствуя накоплению в очаг инфекции нейтрофилов, макрофагов и стимулируя их фагоцитарную, бактерицидную активность, индуцируя запуск антиген специфического иммунного ответа, приводят к локализации и уничтожению патогена. Генерализация и чрезмерное локальное проявление воспалительного процесса предупреждается повышенным синтезом противовоспалительных цитокинов, которые играют важную роль для нормального завершения воспалительного процесса. Нарушение сбалансированности между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами во многом определяет характер течения и исход воспалительного процесса [13].

В последние годы широко изучается цитокиновый статус при различных заболеваниях, однако особенности цитокинового профиля у больных с ОКХ изучены недостаточно. В связи с этим закономерным и актуальным является изучение состояния цитокинового статуса у больных с ОКХ.

Цель настоящей работы — сравнительный анализ системного содержания некоторых цитокинов при различных формах ОКХ в динамике лечения.

Материалы и методы. Обследовано 30 больных с ОКХ, из них у 10 пациентов была катаральная форма болезни, у 7 — флегмонозная, у 7 — гангренозная и у 6 ОКХ осложнялся механической желтухой и холангитом.

Содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных определяли до операции, через 3 и 7 суток после оперативного вмешательства. Определение цитокинов в сыворотке крови проводили путем иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы DenderMedsystems (USA). Количественное содержание фактора некроза опухоли альфа (ФНО α), интерферона гамма (ИФН γ), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-6 (ИЛ-6) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) в сыворотке крови выражали в пкг/мл. Соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов рассчитывали по формуле:

$$\text{ИС} = \text{ФНО}\alpha / \text{ИЛ-10};$$

$$\text{ИС} = \text{ИЛ-2} / \text{ИЛ-10}.$$

Статистическая обработка результатов проведена с использованием метода вариационной статистики t -Стьюдента и непараметрического анализа (Уилкоксон—Манн—Уитни).

Результаты исследования и их обсуждения. На рисунке представлены результаты исследования провоспалительных (ФНО α , ИФН γ , ИЛ-2, ИЛ-6) и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови больных до операции в зависимости от формы воспаления желчного пузыря.

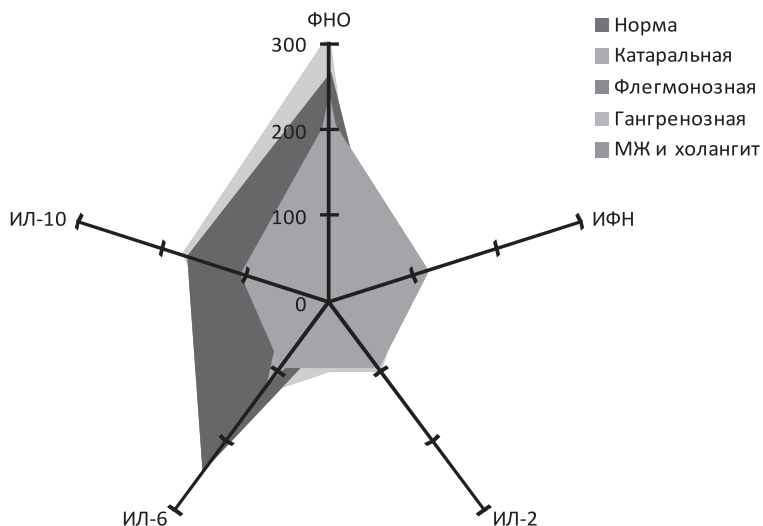


Рисунок. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных при различных формах ОКХ

Как видно из рисунка, при всех формах ОКХ исходный уровень провоспалительного цитокина ФНО α был достоверно выше, чем у здоровых людей. Однако наибольший уровень ФНО α был выявлен у больных с катаральным холециститом по сравнению с другими формами заболевания. Наименьший уровень данного цитокина был отмечен у больных с механической желтухой и холангитом.

При анализе уровня другого провоспалительного цитокина — ИФН γ — была выявлена совсем другая динамика изменения. Так, при всех формах ОКХ содержание его было достоверно меньше, чем в контроле. При этом на фоне механической желтухи и холангита у больных в сыворотке крови уровень ИФН γ был выше по сравнению с показателем контроля (рисунок).

При всех формах ОКХ выявлено уменьшение содержания провоспалительного цитокина ИЛ-2. Значительное уменьшение уровня данного цитокина наблюдалось при гангренозной форме ОКХ (рисунок).

Что касается провоспалительного цитокина ИЛ-6, при всех формах холецистита выявлен достоверный рост уровня данного цитокина. Повышение было наиболее заметным при флегмонозной форме. Наоборот, у больных с ОКХ на фоне механической желтухи и холангита наблюдалось значительное недостоверное уменьшение уровня данного цитокина.

При сравнительной оценке уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10 выявлено, что при катаральной и флегмонозной форме ОКХ, а также у больных с механической желтухой и холангитом имело место повышение его содержания по сравнению с контролем. Наибольший уровень ИЛ-10 был выявлен у больных с катаральной формой воспаления. При гангренозной форме ОКХ содержание данного цитокина было снижено на 51,6% ($p < 0,01$) по сравнению с показателем здоровых людей.

При оценке индексов соотношения про- и противовоспалительных цитокинов у больных с разными формами ОКХ выявлено, что при всех формах ОКХ соотношения ФНО α /ИЛ-10 значительно повышено по сравнению с нормой. Однако максимальная величина данного индекса соотношения наблюдалась при гангренозной форме заболевания (табл. 1). Индекс соотношения ИЛ-2/ИЛ-10 при всех формах ОКХ был снижен, но самое низкое значение его выявлено у больных с флегмонозной формой ОКХ.

Таблица 1. Соотношение про- и противовоспалительных цитокинов у больных с разными формами ОКХ ($M \pm m$)

Форма холецистита	ФНО α /ИЛ-10	ИЛ-2/ИЛ-10
Катаральная	5,83 $\pm$ 0,85 **	1,28 $\pm$ 0,21 **
Флегмонозная	5,82 $\pm$ 0,73 **	0,52 $\pm$ 0,07 ***
Гангренозная	17,14 $\pm$ 4,58 ***	1,21 $\pm$ 0,31 **
Механическая желтуха и холангит	6,43 $\pm$ 0,86 ***	2,45 $\pm$ 0,34
Здоровые люди	3,27 $\pm$ 0,34	2,90 $\pm$ 0,35

Примечание: статистически значимая разница по сравнению с нормой: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

В таблице 2 представлены результаты определения цитокинов в сыворотке крови оперированных больных в динамике.

Таблица 2. Динамика изменения содержания про- и противовоспалительных цитокинов при разных формах ОКХ (М±m)

Цитокин	Форма холецистита	Сроки исследования			Контроль
		До операции	3 сут.	7 сут.	
ФНО α , пкг/мл	Катаральная	126,6±8,6 ***	133,1±8,9 ***	83,4±6,9 ***; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	40,5±1,6
	Флегмонозная	108,7±6,8 ***	119,1±7,5 ***	90,4±6,6 ***; $\wedge$	
	Гангренозная	98,2±6,8 ***	107,8±5,9 ***	92,7±6,4 ***	
	Механическая жел- туха и холангит	88,3±6,5 ***	98,4±6,8 ***	93,6±6,3 ***	
ИФН γ , пкг/мл	Катаральная	23,3±3,2 ***	34,3±4,1 ***; $\wedge$	48,3±8,7 $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	56,3±3,2
	Флегмонозная	36,4±2,7 ***	43,3±2,7 *; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	51,9±2,8 $\wedge$ $\wedge$	
	Гангренозная	26,1±3,5 ***	37,2±3,7 **; $\wedge$	46,2±3,9 *; $\wedge$ $\wedge$	
	Механическая жел- туха и холангит	66,7±2,3 *	86,5±4,7 ***; $\wedge$ $\wedge$	71,3±3,4 *	
ИЛ-2, пкг/мл	Катаральная	28,4±3,1 *	30,4±3,2	32,0±2,9	35,1±1,7
	Флегмонозная	9,9±1,5 ***	13,5±1,7 ***	27,3±2,6 *; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	
	Гангренозная	7,0±1,2 ***	10,4±1,3 ***	23,0±1,7 ***; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	
	Механическая жел- туха и холангит	33,2±2,1	37,2±2,0	36,6±1,9	
ИЛ-6, пкг/мл	Катаральная	24,4±3,4 *	47,5±4,6 ***; $\wedge$ $\wedge$	21,9±3,2	18,3±1,2
	Флегмонозная	45,0±4,5 ***	58,7±5,8 ***; $\wedge$	25,4±3,2 *; $\wedge$ $\wedge$	
	Гангренозная	22,3±1,9 *	33,3±2,9 ***; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	24,8±3,5 *	
	Механическая жел- туха и холангит	17,4±1,9	39,7±2,7 ***; $\wedge$ $\wedge$	26,1±3,2 **; $\wedge$	
ИЛ-10, пкг/мл	Катаральная	24,8±3,4 ***	36,0±4,4 ***; $\wedge$	21,3±3,3 *	14,0±1,7
	Флегмонозная	19,8±1,9 *	35,2±2,2 ***; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	18,1±1,6	
	Гангренозная	6,8±1,2 **	28,0±4,5 **; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$	21,1±3,3 *; $\wedge$ $\wedge$	
	Механическая жел- туха и холангит	15,1±2,5	23,7±2,5 **; $\wedge$	16,7±2,3	

Примечание: статистически значимая разница: 1) по сравнению с нормой: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; 2) по сравнению с исходным: $\wedge$ — $p_1 < 0,05$; $\wedge$ $\wedge$ — $p_1 < 0,01$; $\wedge$ $\wedge$ $\wedge$ — $p_1 < 0,001$.

Из таблицы 2 можно видеть, что системная концентрация провоспалительных цитокинов ФНО α и ИЛ-6 у больных с разными формами ОКХ в динамике в послеоперационном периоде наблюдается однонаправленно. На 3-е сутки после оперативного вмешательства во всех формах ОКХ у больных отмечается достоверный рост концентраций ФНО α и ИЛ-6 по сравнению с нормой и исходными значениями до операции. В дальнейшем до 7 суток после операции концентрация обоих цитокинов в сыворотке крови при всех формах холецистита закономерно снижается, но нормализации их не происходит. У больных с ОКХ, осложненным механической желтухой и холангитом, в 2,2 раза ($p < 0,001$) повышено содержание ФНО α в сыворотке крови, причем на 3-е сутки после операции оно повышается еще на 11,3% по сравнению с исходным показателем. В дальнейшем его содержание начинается снижаться, но на 7-е сутки оно остается больше нормы в 2,3 раза ($p < 0,001$). У больных данной категории концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови до операции, наоборот, незначительно снижена, после операции отмечается тенденция к повышению уровня данного цитокина. После 3-х суток происходит некоторое снижение концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови, который на 7-е сутки на 42,7% ($p < 0,01$) оставался больше нормы.

При катаральной, флегмонозной и гангренозной формах холецистита, сниженная до операции концентрация провоспалительного цитокина ИФН γ в сыворотке крови после оперативных вмешательств начинает достоверно повышаться по сравнению с исходными значениями. У больных с ОКХ на фоне механической желтухи и холангита содержание ИФН γ до операции на 18,5% ($p < 0,05$) было больше нормы. В первые послеоперационные дни происходит повышение содержания данного цитокина в сыворотке крови с дальнейшим падением его уровня (табл. 2).

Необходимо отметить, что на фоне высоких цифр как провоспалительных (ФНО α , ИЛ-6), так и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10) уровень ИФН γ на протяжении всей острой фазы воспаления был ниже показателя контроля. Снижение ИФН γ у больных с катаральной, флегмонозной и гангренозной формой ОКХ может свидетельствовать о направленной дивергенции Th0-клеток в сторону преобладания Th2, что соответствует низкому уровню экспрессии CD4 $^{+}$ -хелперов. Подобная динамика ИФН γ при высоком содержании провоспалительных цитокинов отмечена при распространенном перитоните [14] и ряде инфекционных болезней [15].

В послеоперационном периоде некоторое увеличение в динамике содержания в крови ИФН γ указывает на тенденцию к восстановлению функции Th1.

При всех формах ОКХ, также у больных с механической желтухой и холангитом, сниженное до операции содержание в сыворотке крови ИЛ-2 после операции началось повышаться по сравнению с исходными данными (табл. 2).

До операции повышенная концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке крови у больных с катаральной и флегмонозной формой ОКХ в первые сутки после оперативных вмешательств начинается повышаться, а в дальнейшем происходит уменьшение его содержания. У больных с гангренозной формой ОКХ сниженная концентрация ИЛ-10, после операции повышаясь, достигает максимальных значений к 3-м суткам наблюдения. В дальнейшем уровень ИЛ-10 в сыворотке крови несколько снижен, но на 50,8% ($p < 0,05$) остается более высоким, чем в контроле (табл. 2).

Таким образом, результаты исследования показали, что у больных с ОКХ наблюдается разнообразный спектр изменений уровня про- и противовоспалительных цитокинов в зависимости от формы холецистита, механической желтухи и холангита.

Изменения показателей цитокинового профиля свидетельствуют, с одной стороны, об активности воспаления, а с другой — об усилении компенсаторных механизмов. Результаты дальнейших исследований показали, что в динамике послеоперационного периода существенно меняется уровень цитокинов в сыворотке крови больных ОКХ, который в значительной степени зависит от формы заболевания. В то же время к концу срока исследования (7-е сутки) уровень ФНО α , ИЛ-6 и ИЛ-10 оставался достоверно высоким, а уровень ИФН γ и ИЛ-2 — низким по сравнению с контрольной группой. Следует отметить, что у больных с механической желтухой и холангитом содержание ИФН γ и ИЛ-2 на 7-е сутки оставалось более высоким, чем у здоровых лиц.

Высокие показатели индекса соотношения ФНО α /ИЛ-10 у больных ОКХ до операции, указывающие на активность воспалительного процесса, на 7-е сутки после операции снижаются. Наоборот, сниженный показатель индекса соотношения ИЛ-2/ИЛ-10 до операции на 7-е сутки после операции имеет тенденцию к нормализации.

Таким образом, ОКХ сопровождается дисбалансом цитокиновой регуляции, а глубина дисбаланса зависит от формы холецистита, наличия механической желтухи и холангита.

Тенденция к нормализации в послеоперационном периоде индексов соотношения про- и противовоспалительных цитокинов говорит об ослаблении активности воспалительного процесса.

Хирургическое вмешательство на фоне общепринятой базисной консервативной терапии позволило в некоторой степени устранить имеющийся дисбаланс в цитокиновом профиле при всех формах ОКХ.

Выявленные особенности нарушений цитокинового профиля у больных с ОКХ требуют разработки дифференцированной цитокинотерапии для нормализации цитокинового баланса.

Литература

1. Елисенко А. В., Куделькина Н. А. Желчнокаменная болезнь и факторы риска (клинико-эпидемиологическое исследование) // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2002. № 5 (12). С. 98–102.
2. Ильченко А. А. Классификация желчнокаменной болезни // Тер. архив. 2004. № 2. С. 75–78.
3. Ермаков Е. А., Лищенко А. Н. Миниинвазивные методы лечения желчнокаменной болезни, осложненной нарушением проходимости желчных протоков // Хирургия. 2003. № 6. С. 68–74.
4. Прудков М. И., Столин А. В., Кормацких А. Ю. Экспресс-диагностика гнойно-деструктивных форм острого калькулезного холецистита // Хирургия. 2005. № 5. С. 32–34.
5. Давыдов А. А., Исаев А. Ф., Крапивин Б. В. и др. Госпитальная инфекция при открытой и лапароскопической холецистэктомии // Междунар. хир. конгресс «Актуальные проблемы современной хирургии». М., 2003. С. 83.
6. Зубеев П. С., Новиков В. В., Страхов А. В., Максимычев В. Н. Применение препарата «Деринат» в иммунопрофилактике послеоперационных инфекционных осложнений у больных калькулезным холециститом: метод. рекоменд. Нижний Новгород: Изд-во «Вести», 2003. 24 с.
7. Симбирцев А. С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. 2002. № 1. С. 9–16.
8. Маркелова Е. В., Костюшко А. В., Красников В. Е. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях // Тихоокеанский медицинский журнал. 2008. № 3. С. 24–29.
9. Черешнев В. А., Юшков Б. Г., Климин В. Г., Лебедева Е. В. Иммунофизиология. Екатеринбург: УрО РАН, 2002.

10. Черный В. И., Нестеренко А. Н. Иммунокоррекция в комплексе интенсивной терапии хирургического сепсиса: метод. рекомендации. Киев, 2010. 76 с.
11. Авдеева Ж. И., Алпатов Н. А., Акользина С. Е., Медуницын Н. В. Иммуноадъювантный эффект цитокинов // Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. № 3. С. 19–22.
12. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 554 с.
13. Останин А. А., Зайнутдинов Ю. Г., Стрельцова Е. И. и др. Хирургический сепсис. Сообщение 2. Эффективность иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 // Вестник хирургии. 2002. Т. 161, № 4. С. 79–84.
14. Жидовинов А. А., Чупров П. И., Чукарев С. В. и др. Клинико-лабораторная стратификация эндогенной интоксикации и SIRS у больных с распространенной формой аппендикулярного перитонита // Цитокины и воспаление. 2007. № 1. С. 25–30.
15. Иванис В. А., Маркелова Е. В., Скляр Л. Ф. и др. Значение цитокинового статуса в изучении иммунопатогенеза инфекционных болезней // Тихоокеанский медицинский журнал. 2004. № 2. С. 36–39.

Статья поступила в редакцию 7 июня 2012 г.