

Е.Ю. Коршунова, Л.А. Дмитриева, О.В. Склярченко

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ Т-ХЕЛПЕРНОГО ДРЕЙФА В РАЗВИТИИ РУБЦОВО-СПАЕЧНОГО ЭПИДУРИТА

Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (Иркутск)

Приведены результаты иммунологического обследования 40 пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом. Выявлены прямые и косвенные признаки, свидетельствующие о дисбалансе соотношения $Tx1 / Tx2$ с шифтом в сторону преобладания активности $Tx2$ с сопутствующим возрастанием продукции профиброгенных цитокинов. Можно полагать, что выявленные изменения способствуют формированию «профиброгенного» фона иммунологического реагирования, который может реализоваться в развитии постоперационного эпидурального фиброза при нейрохирургических вмешательствах на позвоночнике.

Ключевые слова: цитокины, иммуноглобулины, Т-хелперы, рубцово-спаечный эпидурит

PATHOGENETIC MEANING OF T-HELPER DRIFT IN DEVELOPMENT OF CICATRICIAL-COMMISSURAL EPIDURITIS

E.Yu. Korshunova, L.A. Dmitrieva, O.V. Sklyarenko

Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk

The article presents the results of immunologic study of 40 patients with diskogenic lumbosacral radiculitis. Direct and indirect signs that testify to imbalance of $Tx1 / Tx2$ ratio with shift towards prevalence of $Tx2$ activity with concurrent increase of profibrogenic cytokines production were revealed. We can suppose that revealed changes promote formation of "profibrogenic" background of immunologic reaction that can be realized in the development of postoperative epidural fibrosis at the neurosurgical operations on spine.

Key words: cytokines, immunoglobulines, T-helpers, cicatrECIAL-commissural epiduritis

ВВЕДЕНИЕ

Рубцово-спаечные эпидуриты, нередко развивающиеся после оперативных вмешательств по поводу дискогенных поражений пояснично-двигательного сегмента позвоночника, формируют стойкий болевой синдром, приводя к длительному снижению работоспособности, что диктует необходимость поиска новых подходов к профилактике избыточного фиброзирования [1, 2]. В репаративных процессах, развивающихся после хирургической травмы, участвуют не только элементы соединительной ткани, но и многочисленные клетки иммунной системы, взаимодействие которых опосредуется системой цитокинов [6]. В физиологических условиях синтезируется довольно ограниченный спектр данных белков, но при любом виде травмы, воспалении наблюдаются качественные и количественные изменения плазменного и локального цитокинового профиля, что в последующем определяет особенности послеоперационного периода, в частности, своеобразие течения репаративных процессов, их выраженность и сбалансированность [3, 5]. Цитокиновый статус даже здорового человека подвержен индивидуальным колебаниям, в условиях патологии он зависит от характера патологического процесса, функционального состояния иммунцитов, моделируется лекарственными препаратами [5, 6].

В ранее проведенных нами исследованиях выявлены разнонаправленные изменения концентрации комплекса цитокинов в сыворотках крови больных с послеоперационным рубцово-спаечным

эпидуритом. Целью настоящего исследования явилось изучение иммунологического фона у пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом для установления некоторых иммунопатогенетических аспектов в развитии послеоперационного рубцово-спаечного эпидурита.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В рамках данной работы обследовано 40 пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом, госпитализированных в клинику Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН на консервативное лечение (основная группа). Из них 60 % обследованных (24 человека) составили лица женского пола, 40 % (16 человек) — лица мужского пола. Возрастной диапазон обследованных варьировал в пределах от 21 до 60 лет (средний возраст — $44,5 \pm 2,31$).

Концентрацию цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, ИФ- γ , ТФР- β) определяли в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем фирмы «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). Измерение проводили на фотометре вертикального сканирования ВЮТЕК ELx 800 (США) при длине волны 450 нм. Дополнительно в 40 аликвотах сыворотки больных дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом определяли содержание сывороточных IgG, IgA, IgM и общего IgE методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). В качестве

контрольных показателей были использованы результаты, полученные при обследовании 15 практически здоровых лиц, жителей г. Иркутска, сопоставимых по полу и возрасту с группой обследованных пациентов.

Статистическую обработку результатов проводили по общепринятым математическим алгоритмам с использованием пакета программ «Statistica 6.0». Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время многочисленными исследованиями установлено, что цитокины могут разнонаправленно модулировать фиброгенез. Профиброгенными потенциами обладают фактор роста соединительной ткани, ИЛ-4, ФНО- α , ТФР- β [3, 9, 16]. Напротив, способность подавлять фиброгенез выявлена у ИФ- γ [12, 15, 16]. В то же время ФНО- α и ИЛ-1 β считаются важнейшими медиаторами и индикаторами воспалительного процесса, которые, активируя клетки сосудистого эндотелия, снижают их антикоагулянтный потенциал, индуцируют прокоагулянтную активность, ингибируют фибринолиз, что способствует тромбообразованию и обуславливает нарушение локальной микроциркуляции [3, 4]. На клеточном уровне ФНО- α и ИЛ-1 β активируют нейтрофилы и макрофаги, стимулируют выработку ИЛ-1 β и ИЛ-6, кислородных радикалов, синтез простогландина E2 (ПГЕ2) на периферии и в гипоталамусе, синтез фактора роста соединительной ткани [6, 16]. Усиленная локальная и центральная продукция простогландина E2 вносит существенный вклад в персистенцию болевого синдрома при РСЭ, что определяет активное использование нестероидных противовоспалительных средств.

По нашим данным, средние значения концентрации ФНО- α и ИЛ-1 β у больных с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом до начала лечения значительно превышали показатели контрольной группы (табл. 1), что, с одной стороны, отражало наличие активного воспалительного процесса, при этом высокий уровень ФНО- α четко коррелировал с высоким уровнем ИЛ-1 β . С другой стороны, провоспалительный профиль цитокинов формирует склонность к избыточным фибропластическим процессам, активируя продукцию

фактора роста соединительной ткани и ТФР- β , которым отводится ключевая роль в индукции и стимуляции хондрогенеза [19]. В сыворотке крови обследованных пациентов выявлено значимое повышение уровня ТФР- β .

Значительное костимулирующее влияние на выработку ФНО- α и ИЛ-1 β оказывает ИФ- γ , который нашел применение в терапии многих заболеваний, сопровождающихся избыточным фиброзированием вследствие способности подавлять синтез коллагена, важнейших профиброгенных медиаторов, например, фактора роста соединительной ткани и ТФР- β [10].

Значительный интерес представляло также изучение содержания в крови ИЛ-4, обладающего как про-, так и противовоспалительным эффектом, способного осуществлять dawn-регуляцию синтеза ФНО- α и ИЛ-1 β . Кроме того, ИЛ-4 является антагонистом ИФ- γ , активно подавляет дифференцировку T α 1 типа, сдвигая баланс T α 1 / T α 2 в пользу T α 2 иммунного ответа [4]. Следует также отметить, что ИЛ-4 является фактором роста, дифференцировки и хемотаксиса костномозговых предшественников тучных клеток, что значительно увеличивает локальное представительство этих клеток, особенно в барьерных тканях [14].

В результате проведенных исследований выявлено, что уровень ИЛ-4 у больных с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом достоверно превышал контрольные показатели. Более того, в 78 % случаев высокие концентрации ИЛ-4 коррелировали с избыточно высокими уровнями ФНО- α и/или ИЛ-1 β .

В литературе последних лет представлены данные в пользу активного участия тучных клеток в фиброобразовании [7, 11, 13, 15, 20]. Активация тучных клеток сопровождается дегрануляцией с выбросом преформированных медиаторов, в частности гистамина, триптазы, которые индуцируют и усиливают миграцию, пролиферацию фибробластов и синтез коллагена [7, 15]. Активированные тучные клетки в больших количествах синтезируют ИЛ-4, что еще в большей степени определяет поляризацию соотношения T α 2 / T α 1 в сторону T α 2 с усилением антителогенеза, в частности увеличением продукции IgE [7, 14]. Эти данные послужили обоснованием для определения уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови. Полученные результаты отражены в таблице 2.

Таблица 1
Содержание цитокинов в сыворотке крови у пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом

Показатели	Контрольная группа (n =15)	Основная группа (n =40)	p
ИЛ-4 (пг/мл)	20,7 ± 7,6	208,1 ± 14,2	p < 0,05
ФНО- α (пг/мл)	12,5 ± 6,1	264,6 ± 66,7,	p < 0,001
ИЛ-1 β (пг/мл)	32,8 ± 3,1	111,9 ± 24,1	p < 0,05
ИФ- γ (пг/мл)	14,31 ± 1,7	153,3 ± 49,3	p < 0,001
ТФР- β (нг/мл)	1,9 ± 1,1	16,4 ± 1,8	p < 0,001

Таблица 2

Содержание сывороточных иммуноглобулинов и ЦИК у пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом

Показатели	Контрольная группа (n = 15)	Основная группа (n = 40)	p
IgM, г/л	1,44 ± 0,07	1,43 ± 0,13	p > 0,05
IgG, г/л	13,51 ± 0,91	11,03 ± 0,52	p > 0,05
IgA, г/л	1,94 ± 0,13	5,73 ± 0,23	p < 0,001
IgE, МЕ/мл	42,75 ± 4,52	207,88 ± 69,74	p < 0,001
ЦИК (ед. опт. пл.)	56,70 ± 1,91	61,2 ± 2,07	p > 0,05

Из таблицы видно, что у пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом наблюдается значительное увеличение средней концентрации IgE при высоком индивидуальном разбросе показателей. Клинически значимый уровень IgE (более 2 сигмальных отклонений от средней нормы) был выявлен у 53,3 % больных дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом, среднее содержание IgE у них составило 349,2 ± 19,74 МЕ/мл. Важно отметить, что аллергический анамнез удалось установить только у 2 человек, все остальные пациенты клинически значимых аллергических реакций не отмечали. Таким образом, усиление синтеза IgE у пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом можно рассматривать как следствие приобретенного дрейфа соотношения Tх2 / Tх1 в сторону Tх2.

Таким образом, повышенный уровень IgE, способствующий активации тучных клеток, может усиливать фибробластические процессы у больных с изучаемой патологией и являться фактором риска развития послеоперационных рубцово-спаечных эпидуритов. Следует также акцентировать внимание на роли простагландинов, в частности ПГЕ2, как физиологических факторов, ограничивающих дегрануляцию тучных клеток [14]. В этих условиях использование нестероидных противовоспалительных средств, выступающих в качестве гистаминолибераторов, вызывающих IgE-независимую дегрануляцию лаброцитов, нивелирует тормозящее действие ПГЕ2, способствует промоции активации тучных клеток и усилению фиброгенеза. Выдвигаемая гипотетическая концепция подтверждается данными исследований, указывающими на антифиброгенную роль ПГЕ2 [17, 18].

Также у пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом выявлено достоверное увеличение уровня IgA. В настоящее время известно, что продукция IgA в значительной степени контролируется трансформирующим фактором роста β (TGF-β), которому отводится ключевая роль в регуляции фиброгенеза. Уровень данного изоформа иммуноглобулинов является одним из наиболее стабильных показателей и в отсутствии заболеваний со стороны барьерных тканей может расцениваться в качестве косвенного признака усиленной продукции TGF-β.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у больных с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом выявлены прямые и косвенные показатели, свидетельствующие о дисбалансе соотношения Tх1 / Tх2 с шифтом в сторону преобладания активности Tх2 с сопутствующим возрастанием продукции профиброгенных цитокинов при вторичной недостаточности механизмов, осуществляющих негативную регуляцию фиброгенеза. Мы полагаем, что выявленные изменения способствуют формированию «профиброгенного» фона иммунологического реагирования, который может реализоваться в развитие постоперационного эпидурального фиброза при нейрохирургических вмешательствах на позвоночнике. Полученные данные позволяют рекомендовать включение в план консервативной терапии пациентов с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом препаратов ряда мембраностабилизаторов, а также иммуномодуляторов, способствующих нормализации соотношения Tх1 / Tх2 и стимулирующих эндогенный синтез ИФ-γ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горячев А.Н., Попов Л.С., Туморин С.Н. Поясничный остеохондроз – социальная, медицинская и ортопедическая проблема // Новые аспекты остеохондроза. – СПб., 2001. – С. 87–96.
2. Епифанов В.А., Ролик И.С., Епифанов А.В. Остеохондроз позвоночника. – М.: Медицина, 2000. – 344 с.
3. Зубова С.Г., Окулов В.Б. Молекулярные механизмы действия фактора некроза опухолей и трансформирующего фактора роста в процессе ответа макрофага на активацию // Иммунология. – 2001. – № 5. – С.18–22.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 549 с.
5. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 4–15.
6. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.
7. Abel M., Vliagoftis H. Mast cell-fibroblast interactions induce matrix metalloproteinase-9 release from fibroblasts: role for IgE-mediated mast cell activation // J. Immunol. – 2008. – Vol. 180 (5). – P. 3543–3550.

8. Antoniou K.M., Nicholson A.G., Dimadi M. et al. Long-term clinical effects of interferon gamma-1b and colchicine in idiopathic pulmonary fibrosis // *Eur. Respir. J.* — 2006. — Vol. 28, N 3. — P. 496–504.
9. Cooker L.A., Peterson D., Rambow J., Riser M.L. et al. TNF-alpha, but not IFN-gamma, Regulates CCN2 (CTGF), Collagen Type I, and Proliferation in Mesangial Cells: Possible Roles in the Progression of Renal Fibrosis // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* — 2007. — Vol. 3. — P. 157–165.
10. Emmez H., Kardes O., Dogulu F., Kurt G. et al. Role of antifibrotic cytokine interferon-gamma in the prevention of postlaminectomy peridural fibrosis in rats // *Neurosurgery.* — 2008. — Vol. 62 (6). — P. 1351–1357.
11. Garbuzenko E., Nagler A., Pickholtz D. et al. HUMAN mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis // *Clin. Exp. Allergy.* — 2002. — Vol. 32 (2). — P. 237–246.
12. Gurujeyalakshmi G., Giri S.N. Molecular mechanisms of antifibrotic effect of interferon gamma in bleomycin-mouse model of lung fibrosis: down-regulation of TGF- β and procollagen I and III gene expression // *Exp. Lung Res.* — 1995. — Vol. 21. — P. 791–780.
13. Iba Y., Shibata A., Kato M., Masukawa T. Possible involvement of mast cells in collagen remodeling in the late phase of cutaneous wound healing in mice // *Int. Immunopharmacol.* — 2004. — Vol. 4 (14). — P. 1873–1880.
14. Kalesnikoff J., Galli S.J. New developments in mast cell biology // *Nat. Immunol.* — 2008. — Vol. 9 (11). — P. 1215–1223.
15. Kohyama T., Yamauchi Y., Takizawa H. et al. Histamine stimulates HUMAN lung fibroblast migration // *Mol. Cell Biochem.* — 2010. — Vol. 337 (1–2). — P. 77–81.
16. Leask A., Abraham D.J. The role of connective tissue growth factor, a multifunctional matricellular protein, in fibroblast biology // *Biochem. Cell Biol.* — 2003. — Vol. 81. — P. 355–363.
17. Liang Y., Li C., Guzman V.M. et al. Comparison of Prostaglandin F2{alpha}, Bimatoprost (Prostamide), and Butaprost (EP2 Agonist) on Cyr61 and Connective Tissue Growth Factor Gene Expression // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. — P. 27267–27277.
18. Ricupero D.A., Rishikof D.C., Kuang P.P., Poliks C.F. et al. Regulation of connective tissue growth factor expression by prostaglandin E(2) // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 277. — P. L1165–L1171.
19. Strieter R.M., Starko K.M., Enelow R.I., Noth I. et al. Effects of interferon γ -1b on biomarker expression in idiopathic pulmonary fibrosis patients // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2004. — Vol. 170. — P. 133–140.
20. Ziesche R., Block L.H. Mechanisms of antifibrotic action of interferon gamma-1b in pulmonary fibrosis // *Wien Klin. Wochenschr.* — 2000. — Vol. 112 (18). — P. 785–790.

Сведения об авторах

Коршунова Елена Юрьевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения лабораторной диагностики Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-50)

Дмитриева Людмила Аркадьевна – заведующая отделением лабораторной диагностики Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-50)

Склярёнок Оксана Васильевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии и ортопедии Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-46)