

УДК.616.24-002.2:577.175.14:572.512.3

Влияние кадаверной крови из различных сосудистых регионов больных ХОЗЛ с различным индексом массы тела на функциональную (цитокинпродуцирующую) активность мононуклеарных лейкоцитов

Э. В. Травина, А.А. Хренов

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, Симферополь.

Ключевые слова: цитокины, TNF- α , IL-1 β , IL-4, хроническое обструктивное заболевание легких, инсулинорезистентность

Известно, что главная физиологическая миссия желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – пищеварение – сопровождается его высокой и поливалентной активностью, обеспечивающей участие системы органов пищеварения в деятельности ряда других систем, далеких, на первый взгляд, от потребностей сугубо дигестивного характера. Достаточно перечислить лишь некоторые широко известные звенья этой активности, чтобы полифункциональность ЖКТ предстала во всей полноте: гемопоэтическая активность (фактор Кастла, гемопоэтины печени), гемокоагулирующая (фибриноген, факторы протромбинового комплекса, сериновые протеиназы гемокоагуляционного каскада, синтезируемые печенью), иммунная (пейеровы бляшки кишечника, макрофаги кишечной трубки и перитонеума, купферовские клетки печеночной стромы), антипротеиназная (α 1-ингибитор протеиназ, АТ III, α 2-антиплазмин печени) и др. Особенности кровоснабжения органов пищеварения и, в частности, отток от них крови в систему воротной вены, тесный контакт этой крови с печеночными тканевыми структурами, последующее поступление в нижнюю полую вену подчеркивают ту роль, которую играет кровь воротно-печеночного бассейна, кумулирующая вымывающиеся на пути кровотока биологически активные вещества, в формировании интегрального, системного потенциала. После сердца, играющего на данном отрезке

гемокоагуляции в большей степени роль распределительного коллектора, первым органом, стоящим на пути этого нового потенциала, являются легкие. Естественно, что именно бронхолегочная система первой и в полной мере «ощущает на себе» влияние крови воротно-печеночного бассейна.

В многолетнем комплексном исследовании, проведенном в Крымском государственном медицинском университете имени С.И. Георгиевского (1986–2003) установлено, что у лиц с прижизненно интактной печенью и легкими (объектом исследования была кровь, полученная при аутопсии внезапно погибших от травмы людей) печень в проходящей через нее крови индуцирует экспрессию основных иммунорегуляторных молекул – Fc-рецепторов на лимфоцитах и моноцитах и рецепторов к C3-компоненту комплемента, уменьшает содержание IgE и IgA. У больных ХОЗЛ печень теряет большинство своих регуляторных «рычагов» (сохраняется способность снижать уровень IgA), а при ХОЗЛ в сочетании с заболеваниями печени орган приобретает свойство ингибировать функциональную активность лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов. Указанные факты позволили сделать вывод, что у больных ХОЗЛ имеет место синдром полиорганной дисрегуляции иммунной системы (включая печень как уровень органной регуляции иммунного потенциала), усугубляющейся при наличии заболеваний печени. Установлена также роль панкреатической

эластазы в патогенезе ХОЗЛ, подтверждением которой является повышение эластазоподобной активности крови на отрезке кровотока вены поджелудочной железы – правый желудочек (при неизменном показателе в нижней полой вене до впадения печеночных вен) [1, 2, 3, 4].

Общей целью исследования явилось научное обоснование целесообразности использования и оценка клинической эффективности применения фосфатидилхолина (липина) для коррекции дисбаланса цитокинового гомеостаза и функциональной активности мононуклеарных лейкоцитов в комплексном лечении хронического обструктивного заболевания легких у лиц с метаболическим синдромом. В контексте данной цели, по нашему мнению, вполне обоснованным представляется изучение топографических особенностей лейкоцито(лимфоцито)-активных регуляторных цитокинов у больных ХОЗЛ, прежде всего, в воротно-печеночном сосудистом регионе, с позиций расширения понимания патогенетической сущности хронической бронхолегочной патологии, дополнения концепции системных проявлений при ХОЗЛ и перспектив поиска новых путей медикаментозного лечения заболевания.

Материал и методы

Обследовано 20 умерших людей, которых разделили на две группы. 1-ю группу составили 11 умерших больных ХОЗЛ. Во 2-ю группу вошли 9 умерших больных ХОЗЛ с повышенным индексом массы тела. Смерть у больных 1-й и 2-й групп наступила с коротким агональным периодом. При этом мы учитывали, что внезапная смерть – это естественная и потому наиболее ценная модель регионарного иммунитета [5].

Забор крови у всех умерших людей осуществлялся в интервале до 6 часов с момента смерти из 10 сосудистых регионов: подключичной вены (*v.subclavia*), полости правого желудочка (*ventriculus dexter*), полости левого желудочка (*ventriculus sinister*), печеночных вен (*v.v.hepaticae*), воротной вены (*v.portae*), верхней брыжеечной вены (*v.mesenterica superior*), нижней брыжеечной вены (*v.mesenterica inferior*), вен поджелудочной железы (*v.v.pancreaticae*), селезеночной вены (*v.lienalis*), нижней полой вены (*v.cava inferior*) до впадения печеночных вен (у места слияния *v.iliaca communis dextra et sinistra*). Получение образцов крови из обозначенных сосудистых регионов представляло достаточно сложную патологоанатомическую задачу с учетом возрастных и аномальных изменений, кровенаполнения заинтересованных сосудов и больших трудностей анатомо-топографических доступов.

Концентрацию цитокинов в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов (ООО «Цитокины» (Россия) IL-1b, протеиновый контур – TNF-а, IL-4). Оценка результатов осуществлялась фотометрически.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования влияния кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 1-й и 2-й групп на уровень IL-1β в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток здоровых лиц представлены в табл. 1.

Анализируя приведенные в табл. 1 данные, нужно подчеркнуть, что за 100 % нами условно принят уровень IL-1β в периферической крови крови (из локтевой вены) здоровых людей. Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что в крови больных ХОЗЛ, умерших с коротким агональным периодом, содержатся регуляторные цитокины, существенно влияющие на синтез мононуклеарами здоровых лиц IL-1β (в экспериментальной модели краткосрочной клеточной культуры). Характерно, что увеличение содержания регуляторных цитокинов нарастает проксимально – от периферии (*v.subclavia*) к центру. Так, если под влиянием введения в культуральную среду крови лиц 1-й группы из *v.subclavia* исследованный показатель возрастает на 8,5 %, то под влиянием крови из *v.v.hepaticae*, *v.portae*, *v.mesenterica superior* и *v.mesenterica inferior* – соответственно на 161,7 %, 213,6 %, 234,4 % и 256,7 %. Нужно подчеркнуть, что влияние высокого цитокинового потенциала воротно-печеночного сосудистого бассейна на цитокиновый гомеостаз малого круга кровообращения четко прослеживается с учетом того, что исследованный показатель под влиянием крови из *v.v.hepaticae* в 2,1 раза выше, а из *ventriculus dexter* в 1,7 раза выше, чем в *v.cava inferior* до впадения печеночных вен.

Если предположить, что в сосудистых регионах *v.mesenterica superior* и *v.mesenterica inferior* регуляторный цитокиновый потенциал возрастает за счет резорбции тканевых цитокинов из кишечной стенки, то достоверное снижение уровня регуляторных цитокинов после прохождения крови через печень (достоверность различия между экспериментами с введением крови из *v.portae* и *v.v.hepaticae* < 0,001) свидетельствует об антицитокиновой активности органа.

Обращает на себя внимание, что под влиянием введения в культуральную среду крови из *v.lienalis* синтез мононуклеарами IL-1β снижается на 7,7 % ниже физиологического уровня (у здоровых лиц в периферической крови) и в 3,9–2,6 раза ниже, чем синтез цитокина под влиянием крови из *v.mesenterica superior*, *v.mesenterica inferior* и *v.v.pancreaticae*. Эти факты свидетельствуют, что у больных ХОЗЛ селезенка, наряду с печенью, является органом с антицитокиновой активностью.

Нами также установлено, что у лиц 2-й группы с избыточной массой тела синтез мононуклеарными лейкоцитами здоровых лиц цитокина IL-1β статистически значимо выше под влиянием введения в культуральную среду кадаверной крови из всех сосудистых регионов. Печень у больных 2-й группы теряет антицитокиновую активность (достоверность различия между экспериментами с введени-

Табл. 1

Топографическая характеристика влияния кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 1-й и 2-й групп на уровень IL-1 β в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток здоровых лиц, условно принятому за 100,0 %

Сосудистый регион	Стат. показатель	В культуральную среду вводится кадаверная кровь лиц 1-й группы	В культуральную среду вводится кадаверная кровь лиц 2-й группы
подключичная вена (v.subclavia)	M $\pm$ m n p	108,45 $\pm$ 3,10 12 –	130,95 $\pm$ 3,95 9 < 0,001
полость правого желудочка (ventriculus dexter)	M $\pm$ m n p	217,73 $\pm$ 4,61 12 –	327,67 $\pm$ 9,25 9 < 0,001
полость левого желудочка (ventriculus sinister)	M $\pm$ m n p	166,12 $\pm$ 3,55 12 –	218,34 $\pm$ 7,39 9 < 0,001
печеночные вены (v.v.hepaticae)	M $\pm$ m n p	261,67 $\pm$ 4,24 12 –	449,66 $\pm$ 18,89 9 < 0,001
воротная вена (v.portae)	M $\pm$ m n p	313,58 $\pm$ 7,52 12 –	467,04 $\pm$ 11,10 9 < 0,001
верхняя брыжеечная вена (v.mesenterica superior)	M $\pm$ m n p	334,40 $\pm$ 8,45 12 –	512,58 $\pm$ 14,37 9 < 0,001
нижняя брыжеечная вена (v.mesenterica inferior)	M $\pm$ m n p	356,70 $\pm$ 8,31 12 –	531,50 $\pm$ 19,04 9 < 0,001
вены поджелудочной железы (v.v.pancreaticae)	M $\pm$ m n p	241,87 $\pm$ 6,88 12 –	284,39 $\pm$ 11,07 9 < 0,01
селезеночная вена (v.lienalis)	M $\pm$ m n p	92,29 $\pm$ 2,92 12 –	110,74 $\pm$ 3,71 9 < 0,001
нижняя полая вена (v.cava inferior) до впадения печеночных вен	M $\pm$ m n p	127,16 $\pm$ 4,89 12 –	155,54 $\pm$ 4,86 9 < 0,001

Примечание: p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с соответствующим сосудистым регионом у лиц 1-й группы.

ем крови из v.portae и v.v.hepaticae < 0,5); ингибирующего влияния крови селезенки на исследованный показатель также не выявлено.

Указанные факты позволяют утверждать, что наличие избыточного BMI у больных ХОЗЛ характеризуется формированием глубоких нарушений регуляции цитокинового гомеостаза на уровне воротно-печеночного сосудистого региона (включая потерю антицитокиновой активности печени и селезенки) и, в конечном итоге, возрастанием лейкоцито(лимфоцито)-опосредованного цитокинового потенциала малого круга кровообращения. Косвенным подтверждением этого и являются научные факты, документирующие возрастание цитокинового потенциала тканей бронхов больных 2-й группы (представленные в главе 6 нашего исследования).

Результаты исследования влияния кадаверной крови лиц 1-й и 2-й групп из различных сосудистых регионов на уровень TNF- α в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток здоровых лиц

представлены в табл. 2.

Анализ цифрового материала, представленного в табл. 2, свидетельствуют, что независимо от фактора BMI у больных ХОЗЛ отчетливо выражено центрофугальное снижение содержания регуляторных цитокинов, статистически значимо влияющих на синтез мононуклеарами здоровых лиц TNF- α (в экспериментальной модели краткосрочной клеточной культуры). Из наиболее удаленных от бассейна v.portae участках сосудистой системы (v.subclavia, v.cava inferior) кадаверная кровь стимулирует синтез цитокина в 1,9–1,8 раза меньше, чем из самой v.portae.

Как и в эксперименте с исследованием синтеза мононуклеарами IL-1 β , максимально стимулирует синтез TNF- α кровь из v.mesenterica superior и v.mesenterica inferior – соответственно на 274,99 % и 287,22 % (p < 0,001). Выявлено также ингибирующее синтез TNF- α влияние крови, оттекающей от селезенки – исследованный показатель снижается до 48,91 $\pm$ 1,54 %.

Табл. 2

Топографическая характеристика влияния кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 1-й и 2-й групп на уровень TNF-α в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток здоровых лиц, условно принятому за 100,0 %

Сосудистый регион	Стат. показатель	В культуральную среду вводится кадаверная кровь лиц 1-й группы	В культуральную среду вводится кадаверная кровь лиц 2-й группы
подключичная вена (v.subclavia)	M±m n p	115,59±3,96 12 –	162,09±5,84 9 < 0,001
полость правого желудочка (ventriculus dexter)	M±m n p	197,19±5,13 12 –	246,45±7,83 9 < 0,001
полость левого желудочка (ventriculus sinister)	M±m n p	140,84±5,72 12 –	197,04±8,03 9 < 0,001
печеночные вены (v.v.hepaticae)	M±m n p	217,62±9,34 12 –	298,26±10,08 9 < 0,001
воротная вена (v.portae)	M±m n p	272,67±10,10 12 –	306,54±8,28 9 < 0,02
верхняя брыжеечная вена (v.mesenterica superior)	M±m n p	301,49±11,30 12 –	374,99±10,46 9 < 0,001
нижняя брыжеечная вена (v.mesenterica inferior)	M±m n p	318,91±9,69 12 –	387,22±7,65 9 < 0,001
вены поджелудочной железы (v.v.pancreaticae)	M±m n p	202,00±7,65 12 –	278,90±10,39 9 < 0,001
селезеночная вена (v.lienalis)	M±m n p	48,91±1,54 12 –	92,19±2,81 9 < 0,001
нижняя полая вена (v.cava inferior) до впадения печеночных вен	M±m n p	138,05±3,97 12 –	173,59±6,35 9 < 0,001

Примечание: p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с соответствующим сосудистым регионом у лиц 1-й группы.

В эксперименте с кадаверной кровью лиц 1-й группы выявлено также снижение уровня регуляторных цитокинов (модулирующих синтез TNF-α мононуклеарными лейкоцитами) после прохождения крови через печень (достоверность различия между экспериментами с введением крови из v.portae и v.v.hepaticae < 0,001), что свидетельствует об антицитокиновой (по сути – анти-TNF-α) активности печени, а также анти-TNF-α-активности крови из v.lienalis.

Резюмируя вышесказанное, нужно подчеркнуть, что влияние высокого цитокинового потенциала воротно-печеночного сосудистого бассейна на лейкоцито-зависимый цитокиновый (TNF-α) гомеостаз малого круга кровообращения также достоверно прослеживается с учетом того, что исследованный показатель под влиянием крови из v.v.hepaticae в 1,6 (p < 0,001) раза выше, а из ventriculus dexter в 1,4 (p < 0,001) раза выше, чем в v.cava inferior до впадения печеночных вен.

Установлено, что у лиц 2-й группы с повышенным

BMI синтез мононуклеарными лейкоцитами здоровых лиц цитокина TNF-α статистически достоверно выше под влиянием введения в культуральную среду кадаверной крови из всех сосудистых регионов. Печень у больных 2-й группы теряет анти-TNF-α-активности (достоверность различия между экспериментами с введением крови из v.portae и v.v.hepaticae > 0,5); ингибирующее же влияния крови селезенки на исследованный показатель сохраняется.

Указанные факты позволяют утверждать, что наличие избыточного BMI у больных ХОЗЛ характеризуется формированием глубоких нарушений регуляции лейкоцито(лимфоцито)-зависимого синтеза не только IL-1β, но и TNF-α на уровне воротно-печеночного сосудистого региона (включая потерю антицитокиновой активности печени).

Результаты исследования влияния кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 1-й и 2-й групп на уровень лимфокина IL-4 в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток здоровых лиц представлены в табл. 3.

Табл. 3

Топографическая характеристика влияния кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 1-й и 2-й групп на уровень IL-4 в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток здоровых лиц, условно принятому за 100,0 %

Сосудистый регион	Стат. показатель	В культуральную среду вводится кадаверная кровь лиц 1-й группы	В культуральную среду вводится кадаверная кровь лиц 2-й группы
подключичная вена (v.subclavia)	M±m n p	130,88±4,40 12 —	90,64±2,93 9 < 0,001
полость правого желудочка (ventriculus dexter)	M±m n p	141,23±4,54 12 —	105,34±2,39 9 < 0,001
полость левого желудочка (ventriculus sinister)	M±m n p	136,65±5,23 12 —	76,16±2,58 9 < 0,001
печеночные вены (v.v.hepaticae)	M±m n p	197,65±6,04 12 —	114,16±4,47 9 < 0,001
воротная вена (v.portae)	M±m n p	185,96±5,49 12 —	123,88±3,26 9 < 0,02
верхняя брыжеечная вена (v.mesenterica superior)	M±m n p	208,04±8,64 12 —	134,15±4,70 9 < 0,001
нижняя брыжеечная вена (v.mesenterica inferior)	M±m n p	216,27±9,37 12 —	138,38±3,67 9 < 0,001
вены поджелудочной железы (v.v.pancreaticae)	M±m n p	116,93±4,35 12 —	113,27±4,38 9 > 0,5
селезеночная вена (v.lienalis)	M±m n p	106,79±5,21 12 —	111,30±3,99 9 > 0,5
нижняя полая вена (v.cava inferior) до впадения печеночных вен	M±m n p	121,40±4,16 12 —	92,17±3,16 9 < 0,001

Примечание: p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с соответствующим сосудистым регионом у лиц 1-й группы.

Нами установлено (табл. 3), что влияние кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 1-й группы на уровень IL-4 в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток здоровых лиц в целом сохраняет такую же тенденцию, как влияние на уровень провоспалительных цитокинов IL-1β и TNF-α и характеризуется максимальным значением в воротно-печеночном сосудистом регионе. Вместе с тем в целом указанное влияние кадаверной крови на исследованный показатель менее выражено и достигает наибольшего значения в сосудистом регионе v.mesenterica inferior (показатель возрастает на 116,3 %). Обращает на себя внимание, что различие показателя под влиянием крови из v.v.hepaticae и v.portae статистически недостоверно, что свидетельствует об отсутствии участия печени в регуляции уровня лимфокина IL-4 при ХОЗЛ.

Особый интерес, по нашему мнению, представляют результаты исследования влияния кадаверной крови лиц 2-й группы на уровень IL-4 в культуральной среде культуры мононуклеарных клеток

здоровых людей. Так, во всех сосудистых регионах (исключение – v.v.pancreaticae и v.lienalis) влияние кадаверной крови на показатель IL-4 статистически значимо ниже, чем крови лиц 1-й группы.

При осмыслении этих фактов нужно учитывать, что помимо провоспалительной активности лимфокина, повышение уровня IL-4 может рассматриваться как имеющий компенсаторный, контррегуляторный по отношению к провоспалительным цитокинам характер, и уровень IL-4 выступает в качестве фактора, стабилизирующего течение заболевания [6].

Выводы

В исследовании post mortem у больных ХОЗЛ выявлено влияние высокого цитокинового потенциала воротно-печеночного сосудистого бассейна на цитокиновый гомеостаз малого круга кровообращения, а также антицитокиновую активность печени и селезенки.

Наличие повышенного индекса массы тела у

больных ХОЗЛ характеризуется статистически значимым возрастанием цитокинового потенциала, прежде всего, на отрезке кровотока v.mesenterica superior и v.mesenterica inferior → v.portae → v.v.hepaticae → ventriculus dexter → малый круг кровообращения, а также потерей способности печени снижать уровень цитокинов в проходящей через нее крови.

Литература

1. Хренов А.А. Роль печени в формировании иммунного и протеолитического потенциалов легких у больных: острой пневмонией, хроническим бронхитом и

бронхиальной астмой: Дис. д-ра мед. наук: 14.00.05. – К., 1995. – 314 с.

2. Иммунный потенциал крови воротно-печеночного сосудистого бассейна / [С.С. Обернихин А.В., Пуртов, А.А. Хренов и соавт.] // Патология органов пищеварения: Труды Крымского мед. ин-та. – Симферополь, 1986. – Т.110. – С. 67-69.

3. Кушнир С.П. Топографическая характеристика содержания плазменного фибронектина у больных ХНЗЛ при внезапной смерти / С.П. Кушнир, Е.Н. Набокова, А.А. Хренов // Актуальные проблемы терапии. – Труды Крымского медицинского института. – Симферополь, 1994. – Т.132. – С. 108-110.

4. Захарова М.А. Возможное участие панкреатической эластазы в формировании эмфиземы легких у больных хроническим обструктивным бронхитом / М.А. Захарова, А.А. Хренов // Украинский пульмонологический журнал. – 2003. – №2(40). – С. 181-182.

5. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза / А.М. Братчик. – К.: Здоров'я, 1993. – 334 с.

6. Requisite role for interleukin - 4 in the acceleration of fatty streaks induced by heat shock protein 65 or Mycobacterium tuberculosis / [J. George, Y. Shoenfeld, B. Gilburd et al.] // Circ. Res. – 2002. – Vol. 86, № 12. – P. 1203 - 1210.

Вплив кадаверної крові різних судинних регіонів хворих на ХОЗЛ із різним індексом маси тіла на функціональну (цитокінпродукуючу) активність мононуклеарних лейкоцитів

Е. В. Травіна, О.А. Хренов

Вивчено вплив прозапальних медіаторів воротно-печінкового судинного басейну на гомеостаз цитокінів малого кола кровообігу та антицитокінову активність печінки і селезінки у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) в дослідженні post mortem. У хворих на ХОЗЛ з підвищеним індексом маси тіла виявлено вірогідне зростання цитокинового потенціалу на відрізок кровотоку v.mesenterica superior та v.mesenterica inferior → v.portae → v.v.hepaticae → ventriculus dexter → мале коло кровотоку і втрата здатності печінки знижувати рівень цитокінів у крові, що протікає скрізь неї.

Ключові слова: цитокіни, TNF-α, IL-1β, IL-4, хронічне обструктивне захворювання легень, інсулінорезистентність.

Influence of cadaver blood from different vascular regions of COPD patients with different bodymass index on functional (cytokine-productive) activity of mononuclear leukocytes

E.V. Travina, A.A. Khrenov

The subject of this study was the influence of proinflammatory mediators of the portal-hepatic vascular basin on the cytokine homeostasis of the lesser circulation and the anticytokine activity of the liver and the spleen in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients during post-mortem examination. A trustworthy cytokine potential increase in the v.mesenterica superior and v.mesenterica inferior → v.portae → v.v.hepaticae → ventriculus dexter → lesser circulation blood flow section was detected in the COPD patients with elevated bodymass index, together with the loss of the liver's ability to lower the cytokine level in the blood passing through the liver.

Key words: cytokines, TNF-α, IL-1β, IL-4, chronic obstructive pulmonary disease, insulin resistance.