

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ У БОЛЬНЫХ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Смирнова О.В.^{1,2}, Титова Н.М.², Манчук В.Т.¹, Елманова Н.Г.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г, ovsmirnova71@mail.ru;

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, пр. Свободный, 79

Механическая желтуха (МЖ) – тяжелый патологический процесс, обусловленный появлением препятствий оттоку желчи из желчевыводящих путей. Авторами изучены особенности цитокиновой регуляции у 93 больных механической желтухой различного генеза. В зависимости от этиологии все пациенты были разделены на три группы: с доброкачественным вариантом, обусловленным хроническим воспалением в желчевыводящих протоках, с доброкачественным опухолевым процессом и злокачественным опухолевым ростом. Методом ИФА оценивались цитокины ИЛ-2, ИЛ-18, ИЛ-4, ИЛ-10 и TNF- α в венозной крови взятой натощак до патогенетического лечения. Авторами было установлено, что у больных механической желтухой вне зависимости от генеза нарушена работа клеток иммунной системы. В целом, у больных МЖ повышены концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-2, TNF- α и противовоспалительный цитокин ИЛ-10, снижены концентрации ИЛ-18 и ИЛ-4, угнетено моноцитарно-макрофагальное звено. У больных МЖ доброкачественного генеза вне обусловленной воспалением в желчевыводящих протоках и доброкачественном опухолевом ростом, выявляется активация иммунного ответа по Th1-типу.

Ключевые слова: механическая желтуха, цитокины, моноцитарно-макрофагальное звено, Т-хелперы

CYTOKINE REGULATION IN PATIENTS WITH OBSTRUCTIVE JAUNDICE VARIOUS GENESIS

Smirnova O.V.^{1,2}, Titova N.M.², Manchouk V.T.¹, Elmanova N.G.¹

¹Research Institute of Medical Problems of the North Krasnoyarsk, Russia (660022, Krasnoyarsk, street Partizan Zheleznyaka, 3g), e-mail: ovsmirnova71@mail.ru

²Sibirian Federal University Krasnoyarsk, Russia (660041, Krasnoyarsk, avenue Svobodniy, 79) e-mail: rector@sfu-kras.ru

Obstructive jaundice (OJ) - severe pathological process caused by the emergence of obstacles to the flow of bile from the biliary tract. The authors studied cytokine regulation in 93 patients with obstructive jaundice of various origins. Depending on the etiology, patients were divided into three groups: benign option, due to chronic inflammation of the bile ducts, benign and malignant tumor process of tumor growth. By enzyme immunoassay were evaluated cytokines IL-2, IL-18, IL-4, IL-10 and TNF- α in fasting venous blood to the pathogenetic treatment. The inventors have found that patients with obstructive jaundice, regardless of origin disrupted cells of the immune system. In general, patients with breast increased concentration of proinflammatory cytokines IL-2, TNF- α and anti-inflammatory cytokine IL-10 decreased the concentration of IL-18 and IL-4, inhibiting the monocyte-macrophage link. In patients with breast benign origin is caused by inflammation of the bile ducts and benign tumor growth detected activation of the immune response of Th1-type.

Keywords: obstructive jaundice, cytokines, monocyte-macrophage unit, T-helper cells.

Механическая желтуха (МЖ) – тяжелый патологический процесс, обусловленный появлением препятствий оттоку желчи из желчевыводящих путей. Летальность при данной патологии достигает от 15 до 30 % из-за часто возникающих осложнений (клеточно-печеночной недостаточности, токсического шока и др.) [3].

Механическая желтуха бывает доброкачественного и злокачественного генеза [1, 2, 9]. При доброкачественном генезе препятствие вызвано либо доброкачественным опухолевым процессом, либо воспалительными осложнениями при желчнокаменной болезни и т.д. При

злокачественном генезе механической желтухи препятствие обусловлено злокачественным опухолевым ростом.

При механической желтухе выявляются значимые биохимические изменения в виде повышения активности печеночных трансфераз и значительного роста билирубина. Именно увеличение последнего (по данным большинства исследователей) и играет самую значительную патологическую роль в прогрессировании данного состояния.

Роль иммунной системы в патогенезе механической желтухи также изучается [8]. Учитывая роль местного и общего воспаления при наличии препятствия оттока желчи, функция клеток иммунной системы направлена на эрадикацию данного фактора. Особенности работы иммунной системы, сбалансированности всех звеньев зависят от содержания цитокинов, биологически активных веществ, вырабатываемых клетками иммунной системы для её регуляции.

В связи с этим, целью нашей работы было изучить особенности цитокиновой регуляции у больных механической желтухой различного генеза.

Материалы и методы

Объектом исследования были 93 больных МЖ, в возрасте от 33 до 68 лет, 47 мужчин и 46 женщин, поступившие в первое хирургическое отделение КГБУЗ «Красноярской межрайонной клинической больницы скорой медицинской помощи имени Н.С. Карповича» г. Красноярск в 2013-2014 гг. с диагнозом механическая желтуха. Контрольную группу составили 100 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой. Обследование больных и практически здоровых людей проводилось с разрешения этического комитета ФГБНУ «НИИ медицинских проблем Севера», при этом каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование. Оценка уровня цитокинов проводилась при поступлении больных в стационар до патогенетической терапии. Материалом исследования была кровь из локтевой вены, которая забиралась утром натощак при поступлении больного до оперативного вмешательства.

Концентрация IL-2, IL-18, IL-4, IL-10 и TNF- α в плазме крови определялась с помощью метода иммуноферментного анализа (набор ОАО «Витал Девелопмент Корпорейшн») [4-7].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, USA). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводился с использованием критерия Шапиро-Уилка. Описание выборки проводилось с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Для исследования были сформированы четыре группы. 1-я – 100 практически здоровых людей, составляющие контрольную группу. 2-я – 42 человека с механической желтухой, вызванной воспалительными осложнениями желчекаменной болезни и острым панкреатитом (ХВ). 3-я – 13 больных механической желтухой, обусловленная опухолевым доброкачественным процессом в виде кист холедоха и большого дуоденального сосочка (ДО), аденоматозные полипов холедоха и т.п. 4-я – 38 больных механической желтухой, вызванной злокачественным опухолевым процессом в гепатопанкреодуоденальной зоны.

У всех больных механической желтухой вне зависимости от этиологии резко повышена концентрация IL-2 по сравнению с практически здоровыми людьми ($p < 0.05$). При этом, максимальное значение IL-2 наблюдалось в 4-й группе ($p < 0.05$). Т-хелперы 1 типа являются основными продуцентами провоспалительного цитокина IL-2, который является индуктором Ras/MAPK, JAK/Stat и PI3K/Akt сигнальных путей. Таким образом, данный цитокин активирует цитотоксические Т-лимфоциты, участвует в пролиферации эндотелиоцитов при ангиогенезе, является индуктором пролиферации В-лимфоцитов.

Зарегистрировано повышение содержания TNF- α в крови у больных механической желтухой не зависимо от причины заболевания по сравнению с практически здоровыми людьми, наибольшая концентрация которого была в 3-й группе ($p < 0.05$). Необходимо отметить, что у больных механической желтухой злокачественного генеза концентрация TNF- α снижена примерно в 5 раз по сравнению с больными МЖ доброкачественного генеза, вызванная хроническим воспалением и доброкачественным опухолевым ростом. ($p < 0.05$). Основными продуцентами TNF- α являются моноциты и макрофаги. TNF- α стимулирует продукцию ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферона-гамма и является важнейшим компонентом защиты организма от опухолей и паразитов.

Наблюдался высокий уровень IL-10 в группах больных механической желтухой, доброкачественного опухолевого и злокачественного генезов по сравнению с практически здоровыми людьми ($p < 0.05$). Кроме того, содержание IL-10 был повышен в 3 раза у группы доброкачественного опухолевого генеза по сравнению с группой злокачественного генеза. ($p < 0.05$). Противовоспалительный цитокин IL-10 синтезируется CD4⁺ лимфоцитами, моноцитами и макрофагами. Его функциями являются ингибирование синтеза INF- γ Т-лимфоцитами, ингибирование синтеза всех провоспалительных цитокинов у макрофагов и т.д.

Концентрация IL-18 снижена у всех больных механической желтухой по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$). В группе больных МЖ доброкачественного опухолевого генеза было зарегистрировано минимальное значение среди всех групп. ($p < 0.05$). Макрофаги и моноциты синтезируют большую часть провоспалительного цитокина IL-18. IL-18

индуцирует дифференциацию Т-хелперов, активирует провоспалительный фактор транскрипции NF- κ B.

Содержание IL-4 снижено у всех больных механической желтухой по сравнению с практически здоровыми людьми ($p < 0.05$). При этом, в группе больных механической желтухой доброкачественного опухолевого генеза была зарегистрирована максимальная концентрация IL-4 среди всех групп больных МЖ ($p < 0.05$). Содержание IL-4 в крови больных МЖ злокачественного генеза было наименьшим среди всех групп больных механической желтухой. ($p < 0.05$). Особенностью IL-4 является то, что он синтезируется активированными CD4⁺ Т-лимфоцитами (Th2) и эозинофилами. IL-4 играет большую роль в пролиферации и дифференцировке В-лимфоцитов, может активировать Т-лимфоциты, ингибирует макрофаги и моноциты.

У больных механической желтухой доброкачественного генеза (ХВ) были резко повышены концентрации IL-2 и TNF- α по сравнению с контрольной группой, в то время как содержание IL-18 и IL-4 было снижено ($p < 0.05$).

Уровни IL-2, IL-10 и TNF- α у больных МЖ опухолевого доброкачественного генеза, были сильно повышены по сравнению с практически здоровыми людьми. Также, содержание в крови IL-4 в данной группе было повышено в 10 раз по сравнению с больными механической желтухой доброкачественного генеза (ХВ) ($p < 0.05$).

У больных механической желтухой злокачественного генеза было повышены концентрации IL-2, IL-10 и TNF- α по сравнению с контрольной группой, IL-2 по сравнению с группой доброкачественного опухолевого генеза, и IL-4 по сравнению с больными механической желтухой доброкачественного генеза, обусловленным хроническим воспалением. У больных механической желтухой злокачественного генеза снижены уровни IL-4, IL-10 и TNF- α по сравнению с группой больных МЖ доброкачественного опухолевого генеза, IL-4 и IL-18 снижены по сравнению с практически здоровыми людьми, TNF- α снижен при сравнении с группой больных механической желтухой доброкачественного генеза, обусловленным хроническим воспалением ($p < 0.05$).

У больных механической желтухой доброкачественного генеза, обусловленным хроническим воспалением наблюдается активация моноцитов и Т-хелперов 1 типа, также, можно констатировать снижение активности макрофагов и Т-хелперов 2 типа. Таким образом, наблюдаем активацию иммунного ответа по Th1-пути, и дисбаланс в функционировании неспецифического клеточного ответа.

У больных механической желтухой доброкачественного опухолевого генеза, резко возрастает активность моноцитов и Т-хелперов 1. Так же, у данных пациентов наблюдается снижение активности макрофагов и Т-хелперов 2 типа. У данной группы больных

наблюдается активация иммунного ответа по Th1-пути, при этом, более выражен дисбаланс в работе неспецифического клеточного звена иммунитета.

У больных механической желтухой злокачественного генеза наблюдается усиление активности моноцитов, но регистрируется угнетение иммунного ответа по Th1 и Th2 механизмам. Согласно полученным данным, можно уверенно говорить об иммунодефиците по Th1- и Th2-типам, и дезорганизации в работе неспецифического клеточного звена иммунитета.

Содержание цитокинов у больных МЖ различного генеза в сравнении с контрольной группы (Me, C₂₅-C₇₅).

Показатели	Контроль группа №1, N=100 (1)		МЖ группа №2, N= 42 (2)		МЖ, группа N=3, (13)		МЖ, группа №=4, (38)	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
IL-2	1.1	0.5-3.05	7.3	4.8-9.1	4.8	4.55-8.05	8	5.38-12.75
			p ₁₋₂ <0.05		p ₁₋₃ <0.05		p ₁₋₄ <0.05, p ₃₋₄ <0.05	
TNF-α	0.54	0.38-0.87	45	6.4-87.4	67.1	39.3-96.5	13.1	3.9-80.05
			p ₁₋₂ <0.05		p ₁₋₃ <0.05		p ₁₋₄ <0.05, p ₂₋₄ <0.05, p ₃₋₄ <0.05	
IL-10	1.6	0.15-2.1	2.6	1.15-5.15	8.45	7.38-9.52	3	1-6.9
					p ₁₋₃ <0.05		p ₁₋₄ <0.05, p ₃₋₄ <0.05	
IL-4	7.0	5.6-7.8	0.1	0-2.1	1.01	0-1.6	0.4	0-3.55
			p ₁₋₂ <0.05		P ₁₋₃ <0.05, p ₂₋₃ <0.05		p ₁₋₄ <0.05, p ₂₋₄ <0.05, p ₃₋₄ <0.05	
IL-18	278.1	87.3-1000	89.3	56.1-257.8	67.95	61.3-74.5	82.2	72.15-167.55
			p ₁₋₂ <0.05		p ₁₋₃ <0.05		p ₁₋₄ <0.05	

Заключение

У больных механической желтухой вне зависимости от генеза нарушена работа клеток иммунной системы. В целом, у больных МЖ повышены концентрации провоспалительных цитокинов IL-2, TNF-α и противовоспалительный цитокин IL-10, снижены концентрации IL-18 и IL-4, угнетено моноцитарно-макрофагальное звено.

У больных МЖ доброкачественного генеза вне обусловленной воспалением в желчевыводящих протоках и доброкачественном опухолевом ростом, выявляется активация иммунного ответа по Th1-типу.

Список литературы

1. Гальперин Э.И. Классификация тяжести механической желтухи // *Анналы хирургической патологии*. - 2012. - Т 17, №2. - С. 26-33.
2. Гальперин Э.И., Момунова О.Н. Классификация тяжести механической желтухи // *Хирургия*. - 2014.- №1. - С. 5-9.
3. Иванов Ю.В., Чудных С.М. Механическая желтуха: диагностический алгоритм и лечение //2002/ *Медицинский научно-практический журнал «Лечащий врач»*/ 07-08.
4. Смирнова О.В, Манчук В.Т., Агилова Ю.Н. Состояние иммунного статуса и особенности цитокиновой регуляции у больных на разных стадиях миеломной болезни / *Фундаментальные исследования*. – 2014. - №6-1. – С. 515.
5. Агилова Ю.Н., Смирнова О.В, Манчук В.Т Роль цитокинов в прогрессировании миеломной болезни./*Врач-аспирант*. – 2014. - №1.3. – С. 404-407.
6. Смирнова О.В, Манчук В.Т., Агилова Ю.Н. Состояние иммунного статуса и особенности цитокиновой регуляции у больных на разных стадиях миеломной болезни / *Фундаментальные исследования*. – 2014. - №6-1. – С. 515.
7. Смирнова О.В, Манчук В.Т., Савченко А.А. Состояние метаболического статуса лимфоцитов крови больных острым нелимфобластным лейкозом /*Вестник Волгоградского медицинского университета*. – 2010. №3. – С. 49-52.
8. Смирнова О.В, Манчук В.Т., Савченко А.А. Особенности клинических проявлений и характеристика иммунопатогенеза больных хроническим миелолейкозом / *Сибирский онкологический журнал*. – 2007. - №3. – С 16-22.
9. Смирнова О.В., Титова Н.М., Манчук В.Т., Елманова Н.Г., Кочетова Л.В., Пахомова Р.А Особенности клеточного звена иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина / *Фундаментальные исследования*/2015/№2-10. – С. 2174-2179.
10. Gracanin A.G., Kujundzić M., Petrovecki M., Romić Z., Rahelić D. Etiology and epidemiology of obstructive jaundice in Continental Croatia // *Coll Antropol* . - 2013. - 37(1). - P. 131-3.

Рецензенты:

Игнатова И.А., д.м.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» г. Красноярск;

Зайцева О.И., д.м.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск.