

УДК 616.37-002.1/.2-07-092:612.017

КЛИМЕНКО М.В.

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ

**Резюме.** Проанализированы данные по изучению особенностей содержания трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) в сыворотке крови у больных с острым и хроническим панкреатитом в первые 10 суток заболевания. Патогенетически обосновано диагностическое значение не только уровня TGF- $\beta 1$ , но и динамики показателя, являющегося маркером пролиферации фибробластов и кооперации клеток воспаления в поджелудочной железе.

**Ключевые слова:** трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), острый панкреатит, хронический панкреатит.

Анализ современных данных по проблеме острого (ОП) и хронического панкреатита (ХП) убедительно доказал, что неуклонный рост числа больных панкреатитом, развитие рецидивов, увеличение количества послеоперационных осложнений делают необходимым и перспективным оптимизацию ранней диагностики для определения лечебной и хирургической тактики [1, 3, 5, 10].

Среди разнообразия механизмов повреждения поджелудочной железы (ПЖ) наиболее значимым патогенетическим фактором ОП и ХП является воспаление, которое замыкает порочный круг патогенеза. Согласно подавляющему большинству современных научных работ про- и противовоспалительные регуляторные цитокины играют ключевую роль в патогенезе острого и хронического панкреатитов. Существуют данные о ведущей роли цитокинов в формировании фиброза ПЖ и панкреонекроза. В настоящее время доказано, что ОП и гнойный перитонит сопровождаются вторичным иммунодефицитом, который в значительной степени усугубляет течение болезни [2, 4, 6–9, 14].

Однако вышеизложенные данные еще не всегда учитываются в хирургической практике. Одним из важнейших механизмов патогенеза воспаления ПЖ является дисбаланс между провоспалительными и регуляторными цитокинами [7, 8, 14]. В настоящее время вопросы изучения профиля цитокинов при ОП и ХП остаются недостаточно изученными. Не определены тонкие иммунологические механизмы цитокиновых взаимодействий в развитии характера воспалительных изменений ПЖ в динамике патологического процесса. Не до конца ясна взаимосвязь между локальными и системными концентрациями интерлейкинов, уровнем воспалительных изменений в ПЖ и нарушением ее функции. Практически не изучена диагностическая и прогностическая роль при ОП и ХП трансформиру-

ющего фактора роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) — одного из самых универсальных маркеров, который оказывает влияние на процессы инициации пролиферации фибробластов, синтез компонентов экстрацеллюлярного матрикса, кооперацию клеток воспаления (в первую очередь макрофагов) в поджелудочной железе [7, 11, 13, 14]. Дальнейшее изучение пока еще неизвестных механизмов действия плейотропных цитокинов имеет важнейшее значение для разработки новых методов ранней диагностики и лечения больных панкреатитом.

**Цель работы** — определить диагностическое значение цитокинового статуса у больных с острым и хроническим панкреатитом на основании изучения особенностей содержания трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  в сыворотке крови.

### Материал и методы

Проанализированы результаты собственных наблюдений 92 больных, находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях Харьковской ГКБСНМП им. проф. А.И. Мещанинова. Основную группу клинического наблюдения составили 72 больных с панкреатитом. Из них в первую группу включен 51 пациент с ОП: с легкой формой — 20 больных, средней тяжести — 12, тяжелой — 12, с крайне тяжелой формой — 7 пациентов. Во вторую группу включен 21 пациент с ХП. Клиническую группу сравнения составили 20 больных с абдоминальным болевым синдромом (АБС), а контрольную группу — 10 здоровых врачей в возрасте 23–30 лет (по 5 мужчин и женщин), у которых исследовался уровень TGF- $\beta 1$  в сыворотке крови для определения нормы значений. Клиниче-

© Клименко М.В., 2013

© «Украинский журнал хирургии», 2013

© Заславский А.Ю., 2013

ские группы репрезентативны по полу, возрасту и сопутствующей патологии. Вошедшие в исследование пациенты были наиболее трудоспособного возраста. В сформированных группах ретроспективно проведена оценка клинико-anamnestических, лабораторных, инструментальных и терапевтических показателей.

В диагностике характера и степени поражения ПЖ, для определения тактики терапии у пациентов использовались положения Приказа МЗ Украины № 297 от 2.04.2010 года «Стандарти надання медичної допомоги хворим з невідкладними хірургічними захворюваннями органів черевної порожнини». В комплексном обследовании пациентов использовалась экспресс-диагностика ОП, основанная на обнаружении повышенной концентрации антигена трипсиногена-2 в моче с помощью иммунохроматографии. Высокая чувствительность (95,8 %) и специфичность (95,2 %) по отношению к ОП позволяла избежать гипердиагностики ОП на догоспитальном этапе.

В связи с тем, что одним из важных патоморфологических субстратов панкреатита является гиперактивация фибропластических процессов в ткани железы, изучено содержание TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием стандартных наборов DRG ELISA TGF- $\beta$ 1 EIA-1864 (Германия). Исследовались значения TGF- $\beta$ 1 на фотометре в первые 24–48 часов с момента поступления и на 7–10-е сутки нахождения в стационаре у пациентов в соответствующих группах, результаты выражали в нанogramмах на миллилитр. Помимо уровней показателя TGF- $\beta$ 1 изучалась направленность динамики данного противовоспалительного цитокина.

Методами описательной статистики определялись числовые характеристики показателей (математическое ожидание, среднее квадратическое отклонение, ошибка среднего). В качестве критерия достоверности значений показателей между группами наряду с параметрическим критерием *t* Стьюдента применялся непараметрический критерий  $\phi$  Фишера.

## Результаты и обсуждение

Содержание TGF- $\beta$ 1 в первые 24–48 часов у больных с ОП составило  $120,6 \pm 22,4$  нг/мл, с ХП —  $78,8 \pm 5,1$  нг/мл ( $p < 0,001$ ), у пациентов с АБС —  $30,80 \pm 3,62$  нг/мл ( $p < 0,001$ ), в контрольной группе —  $20,7 \pm 3,1$  нг/мл ( $p < 0,001$ ). У больных всех клинических групп отмечено достоверное повышение уровня TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови по сравнению со здоровыми людьми. Однако если у больных с АБС это превышение было незначительным, то у пациентов с ОП показатель был увеличен в 5,8 раза ( $p < 0,001$ ), у больных с ХП — в 3,8 раза ( $p < 0,001$ ). Высокие показатели TGF- $\beta$ 1 расценивали как участие противовоспалительных цитокинов в формировании генерализованной воспалительной реакции, когда аутолиз и некробиоз ПЖ, забрюшинной клетчатки и развитие ферментативного асцит-перитонита носят абактериальный характер, а тяжесть состояния больных обусловлена выраженной панкреатогенной токсинемией

[3, 6, 11, 14]. Умеренное повышение плейотропного цитокина у пациентов с АБС по сравнению со здоровыми лицами следует объяснить болевым синдромом и умеренно выраженными проявлениями хронических воспалительных заболеваний, но эти данные при статистической обработке не следует считать достоверными.

В динамике патологического процесса на 7–10-е сутки также определен ряд закономерностей. Так, содержание TGF- $\beta$ 1 у больных с ОП снизилось на 42 % — до  $70,6 \pm 14,8$  нг/мл, тогда как у пациентов с ХП увеличилось до  $97,4 \pm 8,3$  нг/мл ( $p < 0,001$ ). У пациентов с АБС уровень TGF- $\beta$ 1 существенно не изменился в динамике —  $26,8 \pm 3,8$  нг/мл и не различался по сравнению с контрольной группой —  $20,7 \pm 3,1$  нг/мл.

Факт роста среднего уровня TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови с  $78,8 \pm 5,1$  нг/мл до  $97,4 \pm 8,3$  нг/мл к 7–10-му дню стационарного наблюдения при обострении ХП мы связываем с более активным участием противовоспалительного цитокина в регуляции процессов асептического воспаления с некробиозом панкреатитов и ферментной аутоагрессией, пролиферации и стимуляции продукции коллагена и митогенеза фибробластов [11–14]. При сопоставлении этиологических факторов и уровней TGF- $\beta$ 1 было выявлено, что пациенты с ХП, среди которых превалировало употребление алкоголя — 10 (47,7 %), имели более высокие уровни —  $87,5 \pm 7,4$  нг/мл в 24–48 часов заболевания по сравнению с 7 (33,3 %) больными, у которых причинами ХП был алиментарный фактор —  $62,3 \pm 7,3$  нг/мл ( $p < 0,001$ ). В группе с ОП подобных закономерностей не было выявлено. Все это подтверждает мнение о том, что факторы роста являются активаторами воспаления, триггерами фиброгенеза ПЖ, стимулируют фибробласты и фиброз поджелудочной железы при хроническом панкреатите [7, 13].

Среди прооперированных из группы с ХП у 6 (28,6 %) из 21 наблюдаемого больного средний уровень TGF- $\beta$ 1 был также выше среднего показателя по группе и составил  $104,2 \pm 11,5$  нг/мл к 24–48-му часу заболевания. То есть даже при медленно прогрессирующем воспалении ПЖ, характеризующимся фокальными некрозами в сочетании с фиброзом, требующим оперативного вмешательства, происходит большая активация противовоспалительных цитокинов по сравнению с пациентами с ХП без операций, но меньшая по сравнению с пациентами с ОП.

По-видимому, важны не только время и уровень плейотропного цитокина, но и степень его снижения в динамике, что отражает характер и компенсаторные возможности иммунологической реактивности организма. Пациенты с ХП, злоупотреблявшие алкоголем и оперированные в последующем, имеют более высокие уровни TGF- $\beta$ 1 в первые сутки пребывания в хирургическом стационаре, что позволяет использовать прогностические свойства цитокина. Представление о состоянии цитокинового статуса является дополнительной информацией для ранней диагностики деструктивного панкреатита, что особенно важно для

начала превентивного лечения и решения об оперативном вмешательстве.

Полученные данные согласуются с мнением Л.П. Фаизовой [7], доказавшей у больных с различными формами ХП развитие вторичной иммунной недостаточности. Последняя характеризовалась дисбалансом цитокиновой регуляции иммунокомпетентных клеток, опосредующих неспецифический, клеточный и гуморальный иммунный ответ, способствующей персистенции воспалительного процесса, развитию фиброза и экзокринной недостаточности, наиболее выраженной при кальцифицирующем панкреатите алкогольной этиологии. Последний представляет наиболее тяжелую форму заболевания по течению и прогнозу. Билиарно-обструктивная по этиологии, обструктивная и воспалительная формы ХП по морфологии предполагают более благоприятное течение заболевания. Оценка этиологии ХП, морфологической формы, степени тяжести структурных изменений и внешнесекреторной недостаточности ПЖ, стадии течения воспалительного процесса при ХП на этапе клинического обследования позволяет прогнозировать степень выраженности патологического процесса в ПЖ, а также недостаточную эффективность работы иммунной системы [6, 7]. При этом уровень продукции TGF- $\beta$ 1 у больных ХП достоверно коррелирует со степенью структурных изменений и экзокринной недостаточности ПЖ, является маркером фиброза и имеет прогностическое значение. Повышение уровня продукции TGF- $\beta$ 1 и основных провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1, интерферон- $\gamma$ , IL-6, IL-8) у больных ХП подтверждает хронический воспалительный процесс в поджелудочной железе [2, 6–8, 14].

Характер динамических изменений TGF- $\beta$ 1 в виде резкого подъема величин с ростом тяжести ОП доказывает, что трансформирующий фактор роста  $\beta$ 1 является маркером, который оказывает влияние на процессы инициации пролиферации фибробластов, синтез компонентов экстрацеллюлярного матрикса, кооперацию клеток воспаления (в первую очередь макрофагов). В экспериментальных работах на животных определена высокая экспрессия TGF- $\beta$ 1 в острую фазу воспаления и в позднюю стадию фиброза. При воздействии на иммунную систему преобладают ингибирующие эффекты TGF- $\beta$ 1. TGF- $\beta$ 1, являясь фиброгенным цитокином, стимулирует изменение структуры ПЖ, ее ремоделирование. Эта морфологическая перестройка может быть основой патогенеза как ОП, так и ХП. TGF- $\beta$ 1 играет огромную роль в развитии фиброза и потенцировании апоптоза клеток ПЖ [12–15].

## Выводы

1. Уровень и характер динамики показателей плейотропного цитокина TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у больных с панкреатитом зависит от характера остроты патологического процесса в поджелудочной железе (острый или хронический). Для ОП в первые 48 часов заболевания характерен более высокий уровень

TGF- $\beta$ 1 —  $120,6 \pm 22,4$  нг/мл по сравнению с ХП —  $78,8 \pm 5,1$  нг/мл.

2. Для больных с абдоминальным болевым синдромом, вызванным острым гастритом (20 %) и дискинезией ЖВП с калькулезом желчного пузыря (35 %), уровень TGF- $\beta$ 1 в первые 48 часов заболевания составляет  $30,80 \pm 3,62$  нг/мл с нормализацией к 7–10-м суткам. Уровень содержания TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у здоровых людей 25–30 лет составляет  $20,7 \pm 3,1$  нг/мл.

3. Клинически значимыми являются не только время заболевания и уровень плейотропного цитокина, но и степень его снижения в динамике, поскольку отражает характер и компенсаторные возможности иммунологической реактивности организма. Десятые сутки заболевания характеризуются снижением TGF- $\beta$ 1 у больных ОП до  $70,6 \pm 14,8$  нг/мл. В группе пациентов с ХП отмечен подъем TGF- $\beta$ 1 до  $97,4 \pm 8,3$  нг/мл, а у нуждающихся в оперативном вмешательстве при ХП — до  $104,2 \pm 11,5$  нг/мл.

## Перспектива исследований

С учетом детерминирующей роли противовоспалительного цитокина при панкреатитах актуальными являются дальнейшие исследования по определению прогностических значений TGF- $\beta$ 1. А накопленные данные исследований свидетельствуют о перспективности дальнейшего развития экспериментальных и клинических работ этого направления.

## Список литературы

1. Велигоцкий Н.Н. Некоторые нерешенные вопросы классификации и лечебно-диагностической тактики при остром панкреатите / Н.Н. Велигоцкий, А.Н. Велигоцкий, Б.С. Федак [и др.] // Вестник клуба панкреатологов. — 2010. — № 3. — С. 36–38.
2. Кудрявцев К.В. Эволюция каскада комплемента: ранние этапы / К.В. Кудрявцев, А.В. Полевщиков // Цитокины и воспаление. — 2005. — Т. 4, № 1. — С. 11–21.
3. Пути улучшения результатов лечения больных панкреонекрозом / Н.А. Кузнецов, Г.В. Родоман, Т.И. Шалаева, А.А. Наливайский // Хирургия. — 2008. — № 5. — С. 25–27.
4. Минаев С.В. Исследование значения цитокинов в патогенезе острой хирургической патологии брюшной полости / С.В. Минаев, Г.Ю. Кнорринг // Практическая медицина. — 2004. — № 4(9). — С. 49–51.
5. Минушкин О.Н. Хронический панкреатит: эпидемиология, этиология, классификация / О.Н. Минушкин // Фарматека. — 2007. — № 2. — С. 53–56.
6. Трухан Д.И. Иммуногенетические аспекты патогенеза острого панкреатита / Д.И. Трухан // Хирургия. — 2000. — № 6. — С. 9–11.
7. Фаизова Л.П. Роль цитокинов в иммунопатогенезе, оптимизации диагностики и лечения хронического панкреатита: дис... д-ра мед. наук / Фаизова Лариса Петровна. — Уфа, 2004. — 195 с.
8. Шабанов В.В. Роль цитокинов и других сигнальных молекул в патогенезе острого панкреатита / В.В. Шабанов // Вестник Рос. академ. мед. наук. — 2003. — № 9. — С. 44–47.

9. Ito T. Can measurement of chemokines become useful biological and functional markers of early-stage chronic pancreatitis? / T. Ito // *J. Gastroenterol.* — 2007. — № 42, Suppl. 17. — P. 72-77.
10. Nair R.J. Chronic Pancreatitis / R.J. Nair, L. Lawler, M.R. Miller // *Am. Fam. Physician.* — 2007. — Vol. 76, № 11. — P. 1679-1688.
11. Nalfertheiner P. Clinical and Laboratory diagnosis of acute pancreatitis / P. Nalfertheiner, E.J. Dominguez-Munoz // *Ann. Ital. Chir.* — 1995. — Vol. 66, № 2. — P. 165-170.
12. Su S.B. Expression of transforming growth factor-beta in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN / S.B. Su, Y. Motoo, Kob M.J. Xie // *Dig. Dis. Sci.* — 2000. — Vol. 4. — P. 151-159.
13. Witt H. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy / H. Witt, M.V. Apte, V. Keim // *Gastroenterology.* — 2007. — Vol. 132(4). — P. 1557-1573.
14. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / T.A. Wynn // *J. Pathol.* — 2008. — Vol. 214. — P. 199-210.
15. Amelioration of pancreatic fibrosis in mice with defective TGF-beta signaling / B.M. Yoo, M. Yeo, T.Y. Oh [et al.] // *Pancreas.* — 2005. — Vol. 30. — P. 27-29.

Получено 30.10.12 □

Клименко М.В.

Харківська медична академія післядипломної освіти, Харків, Україна

## ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОКІНОВОЇ РЕАКТИВНОСТІ ПРИ ГОСТРОМУ ТА ХРОНІЧНОМУ ПАНКРЕАТИТІ

**Резюме.** Проаналізовані дані з вивчення особливостей умісту трансформуючого фактора росту  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) у сироватці крові у хворих на гострий і хронічний панкреатит у перші 10 днів захворювання. Патогенетично обґрунтовано діагностичне значення не тільки рівня

TGF- $\beta 1$ , але і динаміки показника, що є маркером проліферації фібробластів і кооперації клітин запалення в підшлунковій залозі.

**Ключові слова:** трансформуючий фактор росту  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), гострий панкреатит, хронічний панкреатит.

Klimenko M.V.

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

## FEATURES OF CYTOKINE REACTIVITY IN ACUTE AND CHRONIC PANCREATITIS

**Summary.** The authors analyzed data regarding the studying characteristics of the content of transforming growth factor  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) in blood serum of patients with acute and chronic pancreatitis in the first 10 days of disease. The diagnostic value was pathogenetically proved not only for the level of TGF- $\beta 1$ ,

but also for the dynamics of the index, which is a marker for fibroblast proliferation and inflammatory cells cooperation in the pancreas.

**Key words:** transforming growth factor  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), acute pancreatitis, chronic pancreatitis.