

УДК 616.155.3-097.37:161.366-002-036.11

*Л. Є. Лаповець
В. А. Акімова
Н. З. Луців
Н. Д. Бойків*

ЦИТОКІНОПОСЕРЕДКОВАНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ГОСТРОМУ ХОЛЕЦИСТИТІ

Національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

Ключові слова: *гострий холецистит, цитокіни ФНП- α , ФНП-Р1, ТФР- β 1, запалення.*

Резюме. *У статті представлені результати дослідження вмісту фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), його розчинного рецептора першого типу (ФНП-Р1) та трансформуючого фактора росту β 1 (ТФР- β 1) у хворих на гострий холецистит. Встановлено, що у хворих на гострий холецистит односпрямовано зростає концентрація компонентів системи ФНП- α -ФНП-Р1. Рівень ТФР- β 1 виявився нижчим порівняно з групою контролю. Спостерігається збалансована цитокінова регуляція імунної відповіді: підвищені концентрації цитокінів ФНП- α та ФНП-Р1 при низькій концентрації ТФР- β 1.*

Вступ

При вивченні гострого холецистити багато уваги приділяють імунним механізмам його патогенезу [7, 8]. Як відомо, запальний процес розвивається за участю цитокінів [8], які відіграють провідну роль в регуляції основних етапів імунної відповіді [7].

Відомо, що у результаті пошкодження чи інфікування тканин в організмі людини розгортається складна багатокомпонентна послідовність реакцій, спрямованих на запобігання подальшій деструкції тканин, ізоляцію і знищення патогену, активацію репаративних процесів і відновлення гомеостазу [8, 11]. Ініціація та основні етапи розвитку запального процесу контролюються головним чином прозапальними цитокінами. Важливо відмітити, що захисна функція прозапальних цитокінів проявляється тоді, коли ці медіатори працюють локально – у вогнищі запалення, проте їх системна продукція не свідчить про високу ефективність протиінфекційного імунітету [1, 7]. Навпаки, надлишок і генералізована продукція прозапальних цитокінів призводить до розвитку бактерійно-токсичного шоку та органних дисфункцій [5, 11].

Саме тому, для дослідження стану цитокінової ланки при гострому холециститі було обрано фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α), його розчинний рецептор першого типу (ФНП-Р1) та трансформуючий фактор росту- β 1 (ТФР- β 1). Продукція і синтез ТФР- β 1 і ФНП- α тісно взаємопов'язані. Як відомо, ФНП- α спричиняє апоптоз інфікованих, трансформованих та пошкоджених клітин [6, 10], що властиво і для ТФР- β 1, який

слугує інгібітором росту та індуктором апоптозу [10, 13, 14].

Баланс між про- та протизапальними цитокінами визначає характер, перебіг та результат захворювання [3, 7, 8]. Таким чином, вивчення механізмів цитокінової регуляції запалення є актуальною проблемою сучасної медицини.

Мета дослідження

Визначити вміст ФНП- α , його розчинного рецептора ФНП-Р1 та ТФР- β 1 у сироватці крові хворих на гострий холецистит до оперативного втручання.

Матеріал і методи

Імунологічні дослідження проведені у 21 хворого на гострий калькульозний холецистит віком 45-85 років. Контрольну групу склали 15 практично здорових осіб віком 35-55 років. Діагноз гострого холецистити виставляли на основі комплексного клінічного, лабораторного та інструментального обстеження. Забір крові для дослідження проводили перед оперативним втручанням. Тяжкість стану пацієнтів оцінювали, визначаючи уніфікованими методами такі лабораторні показники: загальну кількість лейкоцитів, еритроцитів, лейкоцитарну формулу, ШОЕ. Поряд із загальноприйнятими клініко-лабораторними обстеженнями визначали показники цитокінового профілю методом імуноферментного аналізу. Проведено дослідження вмісту в крові цитокінів, а саме: ФНП- α з використанням реактивів фірми «ВекторБест» (Новосибірськ, Російська Федерація), ФНП-Р1 – реактивів фірми «BioSource»

(Belgium), ТФР- β 1 «DRG» (Німеччина). Отримані результати оброблені за допомогою програми «STATISTIKA-6.0». Обчислювали середні арифметичні значення M та стандартні відхилення (m). Вірогідність відмінності показників визначали за допомогою t критерію Стьюдента. Показники вважали вірогідними при $p < 0,05$ [2].

Обговорення результатів дослідження

Результати досліджень вмісту ФНП- α в сироватці крові представлені на рис. Встановлено, що в сироватці крові хворих на гострий калькульозний холецистит рівень ФНП- α становив $7,72 \pm 0,83$ пг/мл, що в 3 рази вірогідно ($p < 0,05$) перевищує його вміст порівняно з групою контролю ($2,5 \pm 0,18$ пг/мл). У групі хворих не було випадків до- та післяопераційних ускладнень, тому підвищення ФНП- α у 3 рази в сироватці крові є відображенням адекватної імунної відповіді при запаленні і сприятливою прогностичною ознакою для перебігу запалення.

ФНП- α – ключовий медіатор запалення [17]. Найчастіше він з'являється у відповідь на ліпополісахариди грамнегативних бактерій. Наслідком появи ФНП- α є утворення прозапальних цитокінів [7, 8, 12].

Визначення рівня лише ФНП- α у сироватці крові для оцінки запалення при гострому холециститі є недостатньо інформативним, тому слід вивчати систему ФНП- α – ФНП-Р1. Ідентифіковані два рецептори ФНП- α : ФНП-Р55 (рецептор фактора некрозу пухлин першого типу, ФНП-Р1, htf антиген) та ФНП-Р75 (рецептор фактору некрозу пухлин другого типу, ФНП-Р2, utr антиген). Розчинні рецептори з'єднуються з ФНП- α , конкуруючи, таким чином, із рецепторами на клітинній

мембрані, і блокують його ефект, тобто, проявляють властивості цитокіну з протизапальною дією [3, 5, 12].

Результати дослідження рівня ФНП-Р1 у сироватці крові представлені на рис. Середній рівень ФНП-Р1 становив $5,06 \pm 0,72$ нг/мл, що порівняно з групою контролю у 4,2 рази вірогідно ($p < 0,05$) більше.

У результаті даного дослідження можна зробити наступні припущення: у відповідь на місцеву прозапальну дію ФНП- α у циркулюючу кров компенсаторно виділяється значна кількість розчинного ФНП-Р1 для зв'язування максимальної кількості молекул ФНП- α , і відповідно, послаблення його дії на клітини-мішені. Підвищення рівня ФНП-Р1 свідчить про активну участь ФНП- α в патогенезі гострого холециститу, а сам розчинний рецептор ФНП-Р1 може бути використаний, як додатковий діагностичний критерій оцінки активності патологічного процесу при даному захворюванні.

ТФР- β 1 є цитокіном, що має супресивний вплив на динаміку імунної відповіді, захищаючи організм від надлишкової активації макрофагів. Проте, кінцевий ефект ТФВ- β 1 залежить від типу клітини-мішені, стану позаклітинного матриксу та концентрації інших цитокінів [3, 8, 14]. Очевидно, в такій складній біологічній системі, як організм людини, повинен існувати виважений баланс між інгібіторним впливом ТФР- β 1 на процеси росту та проліферації клітин та тканин органів, з одного боку, та його інгібіторним впливом на ріст і функціонування клітин імунної системи – з іншого [8, 9, 15]. Зміщення цього балансу в будь-який бік може призвести до таких серйозних патологічних станів, як автоімунні розлади чи канцерогенез [13, 14]. Окрім цього, ТФР- β 1

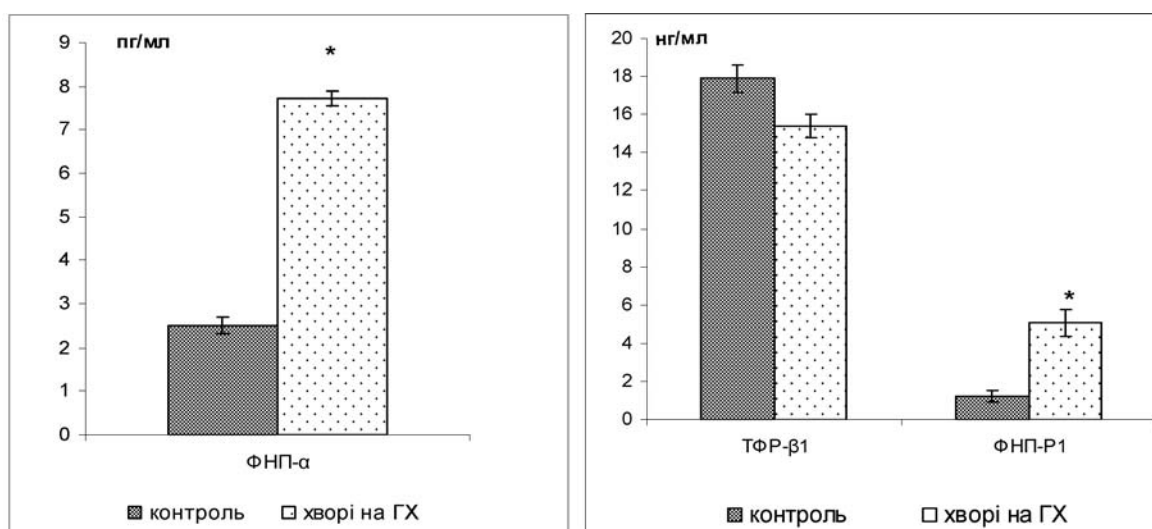


Рис. Уміст ФНП- α , ФНП-Р1 та ТФР- β 1 у сироватці крові хворих на гострий холецистит.

Примітка. * - вірогідність відмінності порівняно з показниками контролю ($p < 0,05$)

розглядається, як ключовий медіатор фіброгенезу в людини. У пацієнтів без прогресування фіброзу рівень цього цитокіну вірогідно нижчий, ніж у пацієнтів із прогресуванням [4, 12].

Результати дослідження рівня ТФР- β 1 у сироватці крові хворих на гострий холецистит представлені на рис. Нами встановлено, що в групі хворих концентрація ТФР- β 1 в сироватці крові становила $15,4 \pm 0,3$ нг/мл, а в групі контролю – $17,9 \pm 0,71$ нг/мл. Сироватковий рівень ТФР- β 1 у хворих виявився нижчим, ніж у групі контролю, в 1,16 рази ($p < 0,05$).

Отже, підсумовуючи результати нашого дослідження, слід зазначити, що баланс цитокінів відіграє регуляторну роль у перебігу запального процесу. Важливим є встановити наявність цитокінового балансу чи дисбалансу при патології. У нашому дослідженні ФНП- α є ключовим представником прозапальних цитокінів, і його втримі підвищений рівень в сироватці крові свідчить про інтенсивну запальну відповідь клітин моноцитарно-макрофагальної системи в тканинах. Для того, щоб зменшити системну пошкоджуючу дію ФНП- α , компенсаторно синтезується розчинна форма його рецептора. Із наведених даних бачимо, що кількісно уміст рецептора до ФНП- α є на кілька порядків вищим. Таке співвідношення ФНП- α – ФНП-Р1 може свідчити, що запалення при неускладненому гострому холециститі носить локальний характер і не набуває системного.

Про високий протизапальний потенціал сироватки свідчить і рівень ТФР- β 1. У хворих на гострий холецистит він дещо нижчий порівняно з контролем, що може свідчити про його використання в імунорегуляторних реакціях, і що на цьому етапі запалення ще не відбувається стимуляція його синтезу.

Висновки

1. У хворих на гострий холецистит встановлено односпрямоване зростання концентрації компонентів системи ФНП- α рецептор ФНП-Р1, що свідчить про збереження нормальної цитокінової регуляції імунної відповіді при запаленні.

2. Сироватковий рівень ТФР- β 1 у хворих на гострий холецистит достовірно нижчий, ніж у групі контролю, що не вказує на активацію протизапальних процесів.

3. Виявлені нами зміни в системі про- та протизапальних цитокінів при гострому холециститі свідчать про збереження цитокінового балансу, що є сприятливою прогностичною ознакою для перебігу хвороби.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження спрямовані на визначення концентрацій у сироватці крові ФНП- α , його розчинного рецептора ФНП-Р1 та ТФР- β 1 у хворих на гострий холецистит в динаміці захворювання.

Література. 1. Ащеулова Т.В. Взаимосвязь иммунной активности и оксидативного стресса при прогрессировании артериальной гипертензии / Т.В. Ащеулова, М.В. Заика, Н.Н. Герасимчук // Український терапевтичний журнал. – 2007. - №2. – С. 12-16. 2. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов / В.Боровиков – С-Пб: Питер, 2001. – 656 с. 3. Визначення цитокінів IL-10, IFN-g та TNF-R1 в оцінці функціонального стану імунної системи ВІЛ інфікованих дітей / Л.І. Чернишова, Ю.С. Степановський, Б.В. Донської [та ін.] // Современная педиатрия. – 2012. - Т.6(46). - С. 103-108. 4. Возможная роль трансформирующего фактора роста b как маркера цитокина Т-хелперов типа 3 в патогенезе atopического дерматита / Н.А. Пронина, В.С. Свиридова, А.А. Денисова [и др.] Бюллетень сибирской медицины. – 2004. – Т.3. – С. 27-31. 5. Кляритська П.Л. Система цитокінів при неалкогольному стеатогепатиті / І.Л. Кляритська, О.І. Стіліди // Архів клінічної та експериментальної медицини. – 2010. - Том 19, № 2. – С. 186-191. 6. Мальцев Д.В. Фактор некрозу пухлини альфа як біомаркер тяжкості стану і прогнозування при герпесвірусній нейроінфекції з епілептичним синдромом / Д.В. Мальцев // Український неврологічний журнал. - 2011. - № 2. - С. 5-18. 7. Місцевий імунітет травного тракту / [Стасенко А.А., Саєнко В.Ф., Діброва Ю.А. та ін.]; за редакцією А.А.Стасенкою // К.: Три крапки. – 2005. - 216 с. 8. Нікітін С.В. Роль цитокінів у патогенезі інфекційних захворювань / С.В. Нікітін, Т.В. Чабан, С.К. Сервецький // Інфекційні хвороби. – 2007. - №1. – С. 51-67. 9. Оцінка ролі трансформуючого фактора росту-бета у формуванні діабетичної нефропатії у дітей хворих на цукровий діабет / Г.О. Леженко, О.Є. Пашкова, А.В. Каменщик [та ін.] // Проблеми ендокринної патології. – 2010. - №1. – С. 56-61. 10. Стойка Р.С. Нові механізми у дії екстремальних чинників: роль трансформуючого фактора росту бета-типу / Р.С. Стойка // Біологічні студії. – 2008. - Т.2, №1. – С. 3-21. 11. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией / А.А. Останин, О.Ю. Леплина, М.А. Тихонова [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2002. - Т.2, №1. – С. 39-48. 12. Чернишов П. В. Поліпептидний цитокін фактор некрозу пухлин α (TNF α) та його розчинні рецептори (TNFR55, TNFR75) при псоріазі / П.В. Чернишов, М.А. Водяник, К.В. Коляденко // Український журнал дерматології, венерології, косметології. - 2002. - №2. – С. 19-21. 13. Gressner A.M. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis / A.M. Gressner, R. Weiskirchen, K. Breitkopf // Front. Biosci. - 2002. - №7. - P. 793-807. 14. Increased TGFb1 plasma level in with lung cancer: potential mechanisms / N. Barthelemy-Brichant, J.L. David, L. Bosquie [et al.] // Eur J. Clin. Invest. – 2002. – Vol. 32, №3. – P. 193-198. 15. Letterio J.J. Regulation of immune responses by TGF-b / J.J. Letterio, A.B. Roberts // Annu. Rev. Immunol. – 1998. – Vol. 10. – P. 137-161. 16. Transforming growth factor b1 in tumor cell drug resistance / R. Stoika, M. Yakymovych, I. Yakymovych [et al.] // Acta Biochimica Polonica. – 2003. - Vol.50, №2. – P. 497-508. 17. Tumor necrosis factor receptors - structure and function / J. Rothe, G. Gehr, H. Loetscher [et al.] // Immunol. Res. - 1992. - Vol. 11. - P. 81-90.

ЦИТОКИНОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ОСТРОМ ХОЛЕЦИСТИТЕ

Л.Е. Лаповец, В.Н. Акимова, Н.З. Луцив, Н.Д. Бойкив

Резюме. В статье представлены результаты исследования содержания фактора некроза опухоли α (ФНО- α), его растворимого рецептора первого типа (ФНО-Р1) и трансформирующего фактора роста β 1 (ТФР- β 1) у больных острым холециститом. Установлено, что у больных острым холециститом односторонне возрастает концентрация компонен-

тов системы ФНО- α -ФНО-Р1. Концентрация ТФР- β 1 оказалась ниже по сравнению с группой контроля. Наблюдается сбалаширование состояние цитокиновой регуляции иммунного ответа: повышенные концентрации цитокинов ФНО- α и ФНО-Р1, при низкой концентрации ТФР- β 1.

Ключевые слова: острый холецистит, цитокины ФНО- α , ФНО-Р1, ТФР- β 1, воспаление.

UDC 616.155.3-097.37:161.366-002-036.11

CYTOKINE-MEDIATED MECHANISMS OF INFLAMMATION DEVELOPMENT IN ACUTE CHOLECYSTITIS

L. Ye. Lapovets, V. N. Akimova, N. Z. Lutsiv, N. D. Boykiv

Objective. Determine the concentration of TNF- α , its soluble receptor, TNF-R55 and TGF- β 1 in patients with acute cholecystitis before surgery. **Methods.** Immunological studies were carried out in 21 patients with acute calculous cholecystitis aged 45-85 years. The control group consisted of 15 practically healthy persons aged 35-55 years. The diagnosis of acute cholecystitis was made on the basis of integrated clinical, laboratory and instrumental examination. Blood sampling for the study was performed before surgery. A study of blood levels of cytokines, such as: TNF- α by company's reactive "VektorBest" (Russia), TNF-R55 – company's reactive «BioSource» (Belgium), TGF- β 1 – company's reactive «DRG» (Germany) was

carried out. The data were processed by the program «STATISTIKA.-6.0». The arithmetic average meaning (M) and standard deviation (m) were calculated. Probability of data differences meaning was determined using Student's t test. Indicators were considered probably at $p < 0.05$. **Results.** In patients with acute calculous cholecystitis TNF- α level of was $7,72 \pm 0,83$ pg/ml, which is 3 times probably ($p < 0.001$) higher its concentrations compared with control group $2,5 \pm 0,18$ pg/ml. The average level of TNF-R55 was $5,06 \pm 0,72$ ng/ml in comparison with the control group, where the level of TNF-R55 was $1,20 \pm 0,60$ ng/ml probably 4,2 times higher ($p < 0.05$). In patients with acute cholecystitis concentration of TGF- β 1 in serum was $15,4 \pm 0,3$ ng/ml., and in the control group it was - $17,9 \pm 0,71$ ng/ml. Serum level of TFR- β 1 in patients was lower than in the control group, 1,16 times. **The conclusion.** Changes in the system of pro-and anti-inflammatory cytokines revealed by us in acute cholecystitis indicates the fact of cytokine balance, which is a favorable prognostic sign.

Key words: acute cholecystitis, cytokines TNF- α , TNF-R55, TGF- β 1, inflammation.

D. Halytsky National Medical University (Lviv)

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol. 12, №4 (46). - P65-68.

Надійшла до редакції 01.12.2013

Рецензент – проф. І. Й. Сидорчук

© Л.Є.Лаповець, В.А. Акімова, Н.З. Луців, Н.Д. Бойків, 2013