

УДК 616.428 – 002:617.555]-036.11 – 092.19

**В.М. Акімова**  
**Л.Є. Лаповець**  
**Б.М. Белявська**  
**Н.Є. Лаповець**

## ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН РЕГУЛЯТОРИХ СУБПОПУЛЯЦІЙ Т-ХЕЛПЕРІВ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНИЙ ЛІМФАДЕНІТ

Національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів

**Ключові слова:** гострий мезаденіт, Т-хелпери, інтерлейкін 2, інтерлейкін 4, інтерлейкін 10.

**Резюме.** Вивчено рівні сироваткових інтерлейкінів 2, 4, 10 у сімнадцяти хворих на гострий мезентеріальний лімфаденіт і в 30 практично здорових осіб. Встановлено достовірне збільшення концентрації в сироватці крові хворих інтерлейкіну 4, і сироваткового рівня інтерлейкіну 10. Виявлено, за допомогою вивчення рівня інтерлейкіну 2, який є маркерним цитокіном субпопуляції Т-хелперів I типу, що більшою мірою активується саме ця субпопуляція. Це може свідчити про переважування клітинної імунної відповіді, активації кілерної ланки імунітету при неспецифічному мезаденіті.

### Вступ

Диференційна діагностика хірургічних захворювань органів черевної порожнини, завдяки сучасним методам, у більшості випадків не викликає суттєвих труднощів. Проте, найбільші проблеми в лікарів виникають, коли йдеться про гострий апендицит. Серед захворювань органів черевної порожнини, з якими доводиться диференціювати гострий апендицит, на особливу увагу заслуговує гострий мезаденіт. Часто діагноз останнього можна поставити інтраопераційно, а це значить, що в більшості таких випадків видаляють незмінений апендикс. Тому все ще актуальним є пошук лабораторних критеріїв диференційної діагностики даних патологічних станів при «гострому животі».

Гострий мезаденіт – запалення лімфатичних мезентеріальних вузлів, у патогенезі якого безпосередню участь бере імунна система. Провідну роль у регуляції активності і синхронізації дії імунокомпетентних клітин відводять розчинним факторам міжклітинної взаємодії – цитокінам, які є основними медіаторами імунної системи [1, 2, 3, 4]. Понад 20 років тому була висунута концепція існування двох субпопуляцій CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів: Т-хелперів I типу (Th1) та Т-хелперів II типу (Th2) [2, 12, 14]. У наш час виділяють чотири основні субпопуляції Т-хелперів, в які диференціюються «наївні» Т-хелпери: Th1, Th2, Th17, Т-регуляторні (Treg). Вони відрізняються за спектрами регуляторних цитокінів. Так, маркерними цитокінами Th1 є ІЛ-2 та  $\gamma$ -IFN; Th2 є продуцентами ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-13; Treg виділяють ІЛ-10 та TGF- $\beta$  [13, 17]. Причому, цитокіни субпопуляції Treg викликають пригнічення імунних реакцій.

© В.М. Акімова, Л.Є. Лаповець, Б.М. Белявська, Н.Є. Лаповець, 2013

Враховуючи синергізм та плейотропність дії інтерлейкінів, що беруть участь у запаленні, визначення концентрації лише одного з них не є достатнім для оцінки стану всього цитокінового балансу. Коректним є підхід, коли визначають хоча б по два інтерлейкіни кожної опозиційної групи.

### Мета дослідження

Визначити цитокінпродукуючу функцію регуляторних субпопуляцій Т-хелперів I та II типу у хворих на гострий мезентеріальний лімфаденіт.

### Матеріал і методи

Вивчалися рівні ІЛ-4, ІЛ-10 та ІЛ-2 у сироватці крові 20 практично здорових осіб віком 17-35 років, та 17 хворих на гострий мезентеріальний лімфаденіт. Середній вік хворих становив 25 $\pm$ 5,24 роки. Визначення інтерлейкінів проводили за допомогою наборів реагентів для імуноферментного визначення концентрації інтерлейкінів у сироватці крові людини фірми “Diaclone” Франція.

Статистичне опрацювання результатів дослідження виконано із застосуванням методів параметричної (варіаційної) статистики з додержанням умов оцінки типу розподілу. Вірогідність отриманих результатів оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Для статистичної обробки матеріалу використовували комп'ютерний пакет програм STATISTICA 2006.

### Обговорення результатів дослідження

У таблиці 1 представлені вихідні дані щодо концентрації маркерних інтерлейкінів субпопуляцій Th1, Th2 Treg Т-хелперів у хворих на гострий мезаденіт.

Таблиця 1

## Уміст цитокінів у сироватці крові хворих на гострий мезентеріальний лімфаденіт, (M±m)

Досліджувані цитокіни (пг/мл)	Групи обстежених		p
	Контрольна група (n=30)	Хворі на гострий мезаденіт (n=17)	
ІЛ-2	0,01±0,005	1,04±0,01	p<0,001
ІЛ-10	1,56±0,14	6,65±0,38	p<0,001
ІЛ-4	1,12±0,08	4,23±0,62	p<0,05

Примітка. p - вірогідність відмінності порівняно з показниками контрольної групи

Таблиця 2

## Співвідношення між рівнями цитокінів у сироватці крові хворих на гострий мезентеріальний лімфаденіт, (M±m)

Досліджувані цитокіни, субпопуляції Т-хелперів	Групи обстежених		p
	Контрольна група (n=30)	Хворі на гострий мезаденіт (n=17)	
ІЛ-2/ІЛ-10 (Th1/Treg)	0,008±0,0002	0,162±0,08	p<0,001
ІЛ-2/ІЛ-4 (Th1/Th2)	0,009±0,0001	0,25±0,06	p<0,001

ІЛ-2 є маркерним цитокіном Th1. Він активує Т-цитотоксичні лімфоцити та НК-клітини, сприяє їх дозріванню, проліферації та диференціації В-лімфоцитів, а отже, запускає клітинну імунну відповідь. Функціонально ІЛ-2 є нетиповим для інтерлейкінів представником, його продукція ефекти обмежуються лише антиген-стимульованими Т-лімфоцитами [5, 6]. Нами встановлено, що при мезаденіті концентрація ІЛ-2 в крові в 104 рази (p<0,001) перевищує показник у контрольній групі, що свідчить про виражену стимуляцію клітинної імунної відповіді, активацію кілерної ланки імунітету.

Нами встановлено, що у хворих на гострий мезаденіт концентрація ІЛ-4 в сироватці крові вища у 3,7 рази (p<0,05) порівняно з концентрацією в практично здорових осіб. За своїми імунобіологічними функціями ІЛ-4 називають В-клітинним стимулюючим фактором. ІЛ-4 стимулює експресію низькоафінного рецептора CD23 до ІgE та переключає синтез ІgG1 на ІgE В-лімфоцитами, сприяючи, таким чином, розвитку реакцій гіперчутливості I типу. Інша важлива функція – регуляція диференціації Th0 в Th2, які його синтезують. Крім того ІЛ-4 є медіатором із протизапальними властивостями: запобігає апоптозу Т-лімфоцитів, інгібує синтез ІЛ-1β та ФНП-α, посилює експресію ІЛ-1b-Rα, є антагоністом γ-інтерферону. Дизрегуляція секреції ІЛ-4 є ключовою в розвитку алергопатології [9, 10].

Про регуляцію чи дизрегуляцію цитокінами імунних реакцій можна говорити лише при дослідженні цитокінів протилежних груп: із про- та протизапальною дією. Для цього ми досліджували вміст ІЛ-10 у сироватці крові, як представника групи протизапальних цитокінів. Інтерлейкін 10 є регуляторним цитокіном, який продукується

особливою популяцією Т-клітин із фенотипом (CD4+CD25+), названих регуляторними – Treg [10, 13, 15]. Головне призначення цих клітин – запобігання автоімунним процесам. При гострому мезаденіті виявлено вірогідно вищий (у 4 рази) рівень ІЛ-10 у сироватці крові порівняно з групою здорових людей. ІЛ-10 володіє широким спектром імунобіологічних функцій, основна з яких – модуляція імунної відповіді, пригнічення імунних запальних реакцій. ІЛ-10 стимулює секрецію імуноглобулінів В-клітинами, зокрема, синтез ІgE. За інгібуючою дією на клітинний імунітет ІЛ-10 синергічний з ІЛ-4.

При сприятливому перебігу мезаденіту можна спостерігати картину місцевого запального процесу. Відомо, що розвиток місцевої запальної реакції на початковому етапі пов'язаний із секрецією активованими тканинними макрофагами низки прозапальних цитокінів, серед яких ІЛ-1β та фактор некрозу пухлин-α, ІЛ-6, ІЛ-8. Ініціація запалення контролюється прозапальними цитокінами; імуносупресивні реакції – ІЛ-10; ІЛ-4 регулює гуморальний імунітет. Циркуючі рівні ІЛ-1β та ІЛ-6 часто корелюють із тяжкістю запального процесу [6, 8, 9]. Основна роль ІЛ-1β полягає в стимуляції Т-хелперів 0 і перетворення їх на Т-хелпери 1 типу, а також у посиленні проліферації В-клітин і синтезі імуноглобулінів. Результатом стимуляції Т-хелперів є продукція ІЛ-2 та розвиток клітинних імунних реакцій: активація Т-кілерів, НК-клітин [1, 7].

Характер імунної відповіді на запальний процес визначається комбінаціями, співвідношенням концентрацій і градієнтами концентрацій різних інтерлейкінів у мікрооточенні. Якщо переважає ІЛ-4, Т-лімфоцити стають Т-хелперами і починають синтезувати ІЛ-4, 5, 6, 7, 10. Останні активують

ють проліферацію В-лімфоцитів із синтезом відповідних імуноглобулінів.

Концентрація цитокінів у сироватці крові віддзеркалює функціональний стан імунної системи. Співвідношення їх може вказувати на регуляцію чи дизрегуляцію при патологічному процесі. Тому, опосередковано, через оцінку співвідношення між рівнями маркерних цитокінів, можна говорити про активність тієї чи іншої регуляторної субпопуляції Т-хелперів. Результати досліджень відображені в таблиці 2.

Співвідношення ІЛ-2/ІЛ-10 у хворих на гострий мезаденіт у 20 разів більше від співвідношення в практично здорових осіб. У групі хворих виявлено значну функціональну активацію субпопуляції Th1 порівняно з Treg, тобто переважає прозапальних цитокінів і менш виражену активацію протизапальних. Якщо порівняти співвідношення ІЛ-2/ІЛ-4, то при гострому мезаденіті воно у 27,7 разів більше, ніж у групі контролю, що також свідчить про виражену активацію субпопуляції Th1.

Отже, підсумовуючи результати проведеного дослідження, слід зазначити, що баланс цитокінів є інтегруючим показником взаємодії молекулярних медіаторів запалення і віддзеркалює універсальні імунологічні механізми запалення. Визначення рівнів ІЛ-2, 4, 10 є важливими додатковими параметрами для діагностики та диференційної діагностики запальних процесів у черевній порожнині.

### Висновки

1. Встановлено значну активацію Т-хелперів І типу на підставі збільшення концентрації ІЛ-2, що свідчить про переважає клітинної імунної відповіді при гострому мезаденіті.

2. Дослідження цитокінового профілю у хворих із синдромом «гострого живота» є перспективним для покращення диференційної діагностики.

### Перспективи подальших досліджень

Перспективним є дослідження функціональної активності регуляторних субпопуляцій Т-хелперів при різних гострих захворюваннях черевної порожнини з метою виявлення особливостей функціонування імунної системи і встановлення додаткових критеріїв дифіагностики.

**Література.** 1.Кетлинский С.А., Эндогенные иммуномодуляторы / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев, А.А. Воробьев. - СПб: Гиппократ, 1992. - 256с. 2.Кетлинский, С.А. Роль Т-хелперов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета / С.А. Кетлинский // Иммунология. 2002. - № 2. - С. 77-79. 3.Лабораторные критерии системной воспалительной реакции при абдоминальных хирургических инфекциях / А.И. Макаров, Н.А. Воробьева, Л.К. Добродеева [и др.] // Хирургия. - 2009. - № 5. - С. 40-45. 4.Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией / А.А. Останин, О.Ю. Лепнина, М.А. Тихонова [и др.] // Цитокины и воспаление. - 2002. - № 1. - С. 39 - 48. 5.Чуклин С.Н. Интерлейкины / С.Н. Чуклин, А.А. Переяслов. - Львов.: Лига-Пресс, 2005. - 481 с. 6.Aihara M.D. Mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced interleukin-8 production by a gastric cancer cell line, MKN45 / M.D. Aihara, D. Tsuchimoto, H. Takizawa // Infect Immun. - 1997. - Vol. 65. - P. 3218-3224. 7.Dinarelli C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease / C.A. Dinarelli // Blood. - 1996. - Vol. 6. - P. 2095-2147. 8.Fantuzzi G. Defective inflammatory response and cytokine synthesis in IL-1b deficient mice / G. Fantuzzi, R.Faggioni, M. Sironi // Cytokine. - 1995. - Vol. 7. - P. 608-615. 9.Hirano T. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis / T. Hirano, M. Matsuda, M. Turner // Eur J. Immunol. - 1988. - Vol. 18. - P. 1797-1801. 10.Kronenberg M. Regulation of immunity by self-reactive T-cells / M. Kronenberg, A. Rudensky // Nature. - 2005. - Vol. 435. - P. 598-604. 11.Kudo C. Inhibition of IL-8-induced W3/25+ (CD4+) T lymphocyte recruitment into subcutaneous tissues of rats by selective depletion of in vivo neutrophils with a monoclonal antibody / C. Kudo, A. Araki, K. Matsushima // J.Immunol. - 1991. - Vol. 147. - P. 2196-2201. 12.Mosmann T.R. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties / T.R. Mosmann, R.L. Coffman // Ann. Rev. Immunol. - 1980. - Vol.7. - P. 145-173. 13.Reciprocal TH 17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid / D. Mucida, Y. Park, G. Kim et al. // Science. - 2007. - Vol.317.- P. 256-260. 14.Rommagnani S. The Th1/Th2 paradigm / S. Romagnani // Immunol.Today. - 1997. - Vol.18. - P.263-266. 15. *Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25 + CD4 + regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self / S. Sakaguchi // Nat. Immunology. - 2005. - Vol. 6. - P. 345-352.* 16.Waldmann T.A. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design / T.A. Waldmann // Nature Rev. Immun. 2006. - Vol. 6, № 8. - P. 595-601. 17. Zhu J. Differentiation of effector CD4 T cell populations / J. Zhu, H. Yamane, W.E. Paul // Annu. Rev. Immunol. 2010. - Vol. 28. - P. 445-489.

### ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ХЕЛПЕРОВ ПРИ ОСТРОМ МЕЗЕНТЕРАЛЬНОМ ЛИМФАДЕНИТЕ

*В.Н. Акимова, Л.Е. Лаповец,  
Б.М. Белявская, Н.Е. Лаповец*

**Резюме.** Изучено уровни сывороточных интерлейкинов 2, 4, 10 у 17 больных острым мезентеральным лимфаденитом и у 30 практически здоровых людей. Установлено достоверное увеличение концентрации в сыворотке крови больных интерлейкина 4, и интерлейкина 10. Выявлено, посредством изучения уровня интерлейкина 2, который является маркерным цитокином субпопуляции Т-хелперов I типа, что в большей мере активируется именно эта субпопуляция. Это может свидетельствовать о превалировании клеточного иммунного ответа, активации киллерного звена иммунитета при неспецифическом мезадените.

**Ключевые слова:** острый мезаденит, Т-хелперы, интерлейкин 2, интерлейкин 4, интерлейкин 10.

### FUNCTIONAL STATE OF REGULATORY SUBPOPULATIONS OF T-HELPER IN ACUTE MESENTERIC LYMPHADENITIS

*V.M. Akimova, L.E. Lapovets,  
B.M. Belavskaya, N.E. Lapovets*

**Abstract.** Among diseases of the abdominal cavity with which the surgeon has to differentiate acute appendicitis, special attention should be paid to mesenteric lymphadenitis. Therefore, it is important to find laboratory criteria for differential diagnosis of "acute abdomen". Immune system directly is involved into

the pathogenesis of the mesadenitis. The major role in regulation of the activity and synchronization of immune cells have cytokines, which are key mediators of the immune system. The purpose of this study - to determine function of regulatory subpopulations of T-helper cells to produce marker cytokines in patients with acute mesenteric lymphadenitis.

**Materials and methods.** We studied the levels of IL-4, IL-10 and IL-2 in serum of 20 healthy subjects aged 17 - 35 years, and 17 patients with acute mesenteric lymphadenitis. The average age of patients was  $25 \pm 5,24$  years. Determination of interleukin was carried out using kits for ELISA by "Diaclone" France. For statistical analysis of the material computer software package STATISTICA 2006 were used. Probability of the results was assessed by Student t-test.

**Results.** We found that in patients serum the concentration of IL-2 104 times is ( $p < 0,001$ ) higher than in the control group. The serum level of IL-4 is significantly ( $p < 0,05$ ) higher 3.7 times and the level of IL-10 significantly ( $p < 0,05$ ) higher 4 times

compared with the concentration in healthy individuals. IL-2/IL-10 ratio in patients with acute mesadenitis is 20 times higher; the ratio IL-2/IL-4 27.7 times higher than the ratio in healthy individuals. The group of patients have significant functional activation of Th1 subpopulation compared with Treg and Th2, the prevalence of pro-inflammatory cytokines. Significant activation of T helper type 1 based on the increase in the concentration of IL-2, indicating the predominance of cellular immune response in acute mesadenitis was found. Investigation of cytokine profile in patients with the syndrome of "acute abdomen" is promising to improve the differential diagnosis.

**Key words:** acute mesadenitis, interleukin 2, interleukin 4, interleukin 10.

**Danylo Halytsky National Medical University (Lviv)**

*Clin. and experim. pathol.* - 2013. - Vol.12, №4 (46). - P.16-19.

Надійшла до редакції 01.12.2013

Рецензент – проф. С.С. Ткачук

© В.М. Акімова, Л.С. Лаповець, Б.М. Белявська, Н.С. Лаповець, 2013