

# ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ

*Л.М. Пасиешвили, М.В. Моргулис*

*Харьковский государственный медицинский университет*

**Ключевые слова:** хронический панкреатит, патогенез, цитокины.

Современная гастроэнтерология на сегодняшний день насчитывает множество достижений и открытий. Однако, проблема изучения заболеланий желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) не утратила актуальности. По-видимому, это связано как с ростом распространенности болезней органов пищеварения, так и с расширением возможностей исследователей благодаря прогрессу в различных отраслях науки.

Среди фундаментальных наук современной теоретической медицины иммунология имеет самую короткую историю. Всего за десятилетия коренным образом изменились представления о механизмах деятельности сложнейшей регуляторной системы, многогранность функций которой далеко выходит за пределы традиционных взглядов на защиту [6, 8]. Во многих работах последних лет показано, что подавляющее большинство иммунорегуляторных эффектов иммунной системы опосредовано цитокинами. Иммуноцитокны находятся в центре внимания современной клинической иммунологии [4,9,15,17]. Благодаря появлению методов количественного определения цитокинов были достигнуты кардинальные изменения в понимании их роли в норме и при патологии. Многие исследователи указывают, что цитокины являются ключевыми факторами иммуногенеза широкого круга заболеланий, во многом определяя направленность патологического процесса, его тяжесть и исход [3, 4]. Так, в последнее время широко изучаются цитокиноопосредованные механизмы развития заболеланий ЖКТ. В гастроэнтерологии на сегодняшний день накоплен материал, касающийся содержания отдельных цитокинов при хронических заболеланиях органов пищеварения, в том числе при хроническом панкреатите (ХП) [17, 20]. До недавнего времени ключевое значение в возникновении и прогрессировании ХП придавалось участию активизированных ферментов поджелудочной железы (ПЖ), однако по современным концепциям патогенеза заболелания главенствующая роль принадлежит цитокинам. Показано участие таких цитокинов, как ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10,

ФНО- $\alpha$  и других в развитии ХП, его прогрессировании и формировании осложнений [1, 16, 19]. Деструкция панкреатической ткани ведет к изменению ее антигенных свойств, при этом являясь лишь триггерным механизмом для запуска неспецифических иммунных реакций, обеспечивающих становление и прогрессирование процесса вне зависимости от этиологического фактора [13, 16].

Необходимо отметить, что для патологии поджелудочной железы характерна хронизация течения патологического процесса и определенная стадийность. На основании современной концепции оценки уровня здоровья с точки зрения теории адаптации, в основе этого процесса лежит угнетение адаптационных реакций организма, вплоть до срыва адаптации [10].

На наш взгляд, изучение изменений цитокинового звена иммунитета на различных стадиях развития ХП позволит не только получить более полное представление о цитокинзависимых аспектах патогенеза этой патологии, но и даст возможность прогнозировать тяжесть и исход заболелания, оценить состояние адаптационных возможностей организма.

Цель работы — изучение изменений уровней интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ), фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и гранулоцитарного колонийстимулирующего фактора (Г-КСФ) у больных ХП с различной длительностью заболелания для оценки тяжести патологического процесса и прогнозирования исхода заболелания.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Обследовано 75 больных ХП (43 женщины и 32 мужчин) в возрасте от 31 до 57 лет. Длительность анамнеза по ХП составляла от 4 до 22 лет. В качестве сопутствующего заболелания был диагностирован хронический бронхит (ХБ), зарегистрированный в течение 2—7 лет. В исследование были включены больные с ХБ вне стадии обострения.

Всем пациентам проведено клинико-анамнестическое обследование; лабораторные исследования:

клинический анализ крови, глюкозотолерантный тест, определение  $\alpha$ -амилазы крови, исследование уровней свободного и ионизированного кальция сыворотки крови, содержания фекальной эластазы-1, исследование содержания ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , Г-КСФ в крови; инструментальные исследования: фиброгастроскопия (ФГС) и ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости.

Активность  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови определяли амилокластическим методом (по Каравею) с использованием стандартного набора ООО «Агат-Мед», Москва (Россия).

Уровень кальция в крови устанавливали биохимическим методом с помощью стандартного набора реактивов PLIVA-Lachema (Чешская республика) с последующим определением содержания ионизированной фракции по формуле Д. Мицюрю [11].

Определение величин ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , Г-КСФ проводили иммуноферментным методом с использованием стандартных наборов реактивов ООО «Цитокин», Санкт-Петербург (Россия). Содержание эластазы-1 в кале — иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител к эластазе (ScheVo-Tech, Германия).

ФГС проводили с помощью фиброгастроскопа Pentax FG — 29 W. Для УЗИ использован аппарат Sono Ace 128 BW prim.

В зависимости от длительности анамнеза заболевания все больные были разделены на три группы. В 1-ю группу (12 пациентов) были включены больные с анамнезом до 5 лет; во 2-ю (37) — от 6 до 10 лет; 3-ю группу составили 26 пациентов с длительностью болезни свыше 10 лет.

Для получения нормативных показателей изучаемых параметров обследовано 20 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Статистическая обработка полученных результатов исследования проведена с помощью одно- и многофакторного дисперсионного анализа (пакеты лицензионных программ «Microsoft Excel», «Stadia.6.1/prof», «Statistica»). Оценивали средние значения ( $M$ ), их погрешности ( $m$ ) и коэффициент корреляции ( $r$ ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке клинической картины заболевания было выявлено, что с увеличением длительности заболевания прогрессировали признаки внешне-секреторной недостаточности ПЖ разной степени выраженности. По мере развития патологического процесса значительно уменьшался по интенсивности и частоте возникновения болевой синдром, а диспептические проявления заболевания выходили на первый план. У большинства пациентов 1-й группы (с самым непродолжительным анамнезом болезни) в клинике явно преобладал выраженный по интенсивности болевой синдром. Кроме того, во 2-й группе наблюдалось снижение частоты рецидивов с выраженной болевой симптоматикой, а у пациентов 3-й группы таковые регистрировались достаточно редко или не наблюдались.

Уровень  $\alpha$ -амилазы сыворотки крови превышал нормативные показатели в 2,3 раза у 8 (66,7%) пациентов 1-й группы, у 18 (48,6%) — 2-й; в 5 (19,3%) случаях в 3-й группе выявлена тенденция к его повышению, что было расценено нами как увеличение выработки фермента на фоне исходно низкой его продукции.

При исследовании содержания сахара в крови и по результатам теста на толерантность к углеводам у 8 больных (10,6%) выявлен панкреатогенный сахарный диабет, у 16 (21,3%) — нарушена толерантность к углеводам. Причем 62,5% пациентов с эндокринной недостаточностью ПЖ составили обследованные из 3-й группы; лишь 37,5% входили во 2-ю группу; в 1-й группе больных такие изменения не зарегистрированы.

При УЗИ были выявлены различные изменения ПЖ: увеличение или снижение эхогенности органа, выраженная неравномерность эхоструктуры, зазубренность контура, уменьшение размеров ПЖ, увеличение органа или его части. Такие эхопризнаки патологических изменений ПЖ, как увеличение эхогенности, выраженная неравномерность эхоструктуры, зазубренность контура, уменьшение размеров ПЖ расценены нами как признаки фибротизации ее паренхимы, которые явно преобладали в 3-й группе (76,9%), 43,2% случаев отмечены во 2-й группе и у 16,7% пациентов 1-й группы. У пациентов с более коротким анамнезом заболевания чаще регистрировались и имели большую выраженность такие признаки, как снижение эхогенности паренхимы, увеличение органа или его части, что свидетельствовало о преобладании воспалительного компонента патологического процесса у этой категории больных.

По данным ФГС с последующим гистологическим исследованием биоптатов в 21,3% случаев выявлен атрофический гастрит, у 16% — поверхностный антральный гастрит. Пациенты с подтвержденным активным воспалением в слизистой оболочке желудка в исследования не включались. При этом атрофические процессы были характерны для 2-й группы и в большей степени для 3-й группы.

Концентрация как свободного, так и ионизированного кальция у больных изменялась в зависимости от длительности анамнеза заболевания, снижаясь по мере развития патологического процесса. У больных 1-й группы средний уровень общего кальция составил  $(2,52 \pm 0,19)$  ммоль/л, не превышая общепринятых норм, но был несколько выше соответствующего показателя группы контроля —  $(2,43 \pm 0,14)$  ммоль/л. По-видимому, такое повышение изучаемых показателей было результатом наличия гиперферментных форм панкреатита, которые отмечены в этой группе. Относительное содержание ионизированного  $Ca^{2+}$  от общего у больных данной группы было также несколько выше нормативных показателей (47,3 при норме 46,9), что свидетельствует о нарушении гомеостаза внутриклеточного кальция и позволяет говорить о целесообразности использования у этой катего-

рии пациентов препаратов с антагонистическим, в отношении кальция, действием. Во 2-й и 3-й группах показатели общего и ионизированного кальция сыворотки крови снижались:  $(2,21 \pm 0,17)$  ммоль/л и  $(1,01 \pm 0,05)$  ммоль/л — во 2-й;  $(2,12 \pm 0,13)$  ммоль/л и  $(0,9 \pm 0,03)$  ммоль/л — в 3-й группе. В группе контроля содержание общего кальция составило  $(2,43 \pm 0,14)$  ммоль/л и ионизированного —  $(1,14 \pm 0,09)$  ммоль/л. Закономерные изменения касались и показателя относительного содержания ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$  от общего, что проявилось снижением последнего до 45,7 во 2-й группе, до 42,5 в 3-й группе. Полученные данные подтверждают, что кальций является одним из ключевых регуляторов секреторных процессов, и дают возможность говорить о целесообразности включения препаратов кальция в комплексную терапию ХП у этой категории больных.

По результатам определения фекальной эластазы-1 больные были разделены в соответствии с тяжестью экскреторной недостаточности на три группы. Средний уровень содержания фекальной эластазы-1 у больных с легкой степенью экзокринной недостаточности составил  $(141,5 \pm 12,4)$  мкг/г, при среднетяжелой степени —  $(63,8 \pm 6,9)$  мкг/г, при тяжелой степени — не превышал 49 мкг/г; в группе контроля  $(252,9 \pm 28,6)$  мкг/г. Причем, в 1-й группе легкая степень недостаточности отмечалась у 2 (16,7%) больных. Во 2-й группе 29,7% пациентов имели легкую степень экзокринной недостаточности, 16,2% — среднетяжелую. В 3-й группе в 42,3% случаях выявлена легкая степень, в 26,9% — среднетяжелая, в 11,5% — тяжелая степень.

При исследовании уровней цитокинов получены следующие результаты. Во всех трех группах зарегистрировано повышение уровней ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и Г-КСФ. Однако выраженность этих изменений была разной (таблица).

Так, содержание ИЛ-1 $\beta$  было максимально повышено у больных 1-й группы и снижалось по мере удлинения срока заболевания. Кроме того, в этой группе наблюдалось четкое преобладание повышения концентрации данного медиатора в сравне-

нии с другими цитокинами, что, по-видимому, объясняется острой фазой воспалительного процесса, инициатором которой он является. Изучение изменений продукции ФНО- $\alpha$  продемонстрировало следующие результаты: достоверное увеличение его содержания отмечено у всех больных ХП, однако у пациентов 1-й и 2-й группы кратность этого показателя к 3-й группе составила 1,3 и 1,5 раза соответственно. Необходимо также указать, что во 2-й группе преобладало увеличение именно данного показателя. Уровень Г-КСФ был повышен у пациентов всех групп с явным преобладанием его увеличения относительно прироста концентрации других цитокинов у пациентов 3-й группы.

Таким образом, выраженная гиперпродукция ИЛ-1 $\beta$ , индуктора каскада цитокиновых реакций отмечается на ранних стадиях заболевания, когда, по-видимому, преобладают воспалительные изменения в железе, имеющие клинично-лабораторное подтверждение. В дальнейшем по мере прогрессирования заболевания, в период обострения регистрируется увеличение концентрации как ИЛ-1 $\beta$ , так и ФНО- $\alpha$  с некоторым преобладанием последнего, что можно объяснить меньшей выраженностью воспалительного компонента при дальнейшем течении патологического процесса и формировании фиброза. ФНО- $\alpha$  при ХП оказывает множество патологических эффектов. Он обладает способностью активизировать ПОЛ, что приводит к нарушению микроциркуляции, обменных процессов и развитию гипоксии, которая сама по себе индуцирует ПОЛ. Имеются данные, что цитокин-индуцированная форма NO активизирует процессы интерстициального роста и фиброза, что является одним из механизмов изменения паренхимы ПЖ [12]. Кроме того, ФНО- $\alpha$ , наряду с активными радикалами, способствует нарушению митохондриального дыхания (разобщению процессов окисления и фосфорилирования), стимулируя таким образом апоптоз [5, 14]. Он, утрачивая свой адаптивный характер в условиях патологии, способствует развитию и прогрессированию фиброобразования паренхимы органа.

Таблица. Уровень ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и Г-КСФ в сыворотке крови у больных с хроническим панкреатитом и сопутствующим ХБ в зависимости от длительности заболевания

Показатель	Группа обследованных			
	1-я (n = 12)	2-я (n = 37)	3-я (n = 26)	контрольная (n = 20)
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	$361,4 \pm 32,06$	$287,5 \pm 23,8$	$197,3 \pm 14,9$	$39,4 \pm 1,14$
ФНО- $\alpha$ , пг/мл	$232,5 \pm 21,8$	$278,6 \pm 23,9$	$183,2 \pm 17,6$	$31,2 \pm 2,4$
Г-КСФ, пг/мл	$52,9 \pm 5,1$	$58,7 \pm 4,9$	$84,3 \pm 8,1$	$30,92 \pm 3,31$

Что касается Г-КСФ, то повышение его концентрации выражено меньше на ранних стадиях заболевания, тогда как на поздних его выработка преобладает относительно продукции других цитокинов. В ходе развития патологического процесса нарушается баланс цитокинопродукции. Учитывая имеющиеся данные о способности ФНО- $\alpha$  стимулировать апоптоз, а Г-КСФ, напротив, угнетать запрограммированную гибель клеток [7], можно предположить, что на разных стадиях заболевания имеют место цитокиноопосредованные разнонаправленные патологические реакции. Так, по мнению некоторых авторов, торможение апоптоза при дефиците цитокинов, стимулирующих его, приводит к запуску аутоиммунных процессов, что и способствует неуклонному прогрессированию заболевания [18].

Поскольку одним из ключевых стимуляторов экстрезии ферментов ПЖ являются ионы кальция, то интересной представляется связь нарушений кальциевого баланса с изменением продукции цитокинов. Как было показано, на ранних этапах заболевания гиперпродукция провоспалительных цитокинов сопровождается некоторым увеличением уровня общего кальция сыворотки крови, в том числе его ионизированной фракции. На поздних стадиях заболевания, напротив, эти показатели снижаются, что на наш взгляд объясняет преобладание и прогрессирование фиброзных изменений ПЖ с последующим развитием недостаточности функции органа, усугубляемой отсутствием стимуляции остаточного потенциала посредством кальцийзависимых механизмов. Существуют данные, в соответствии с которыми ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$

являются потенциальными стимуляторами костной резорбции [2]. Следовательно, направленность цитокиновых реакций, наряду с множеством факторов, может влиять на характер нарушений кальциевого звена. Так при воспалительном процессе в ПЖ, вызванном запуском цитокиновых реакций, изменения кальциевого обмена могут быть связаны с агрессивным воздействием цитокинов на метаболизм костной ткани. Можно предположить, что одним из патогенетических механизмов развития ХП является цитокиноопосредованное увеличение концентрации ионов кальция в крови. Этот механизм, вероятнее всего, реализуется через активизацию секреции соляной кислоты желудочного сока, выработку и экскрецию панкреатического сока, а также посредством влияния на мышечные волокна сфинктера Одди.

Полученные данные свидетельствуют об отличиях в цитокиновом статусе в различные периоды течения ХП, что отражает выраженность воспалительных и фибротических процессов в ПЖ. Изучение динамики изменений показателей цитокинов с различными свойствами дает возможность оценить остроту воспалительного процесса, прогнозировать его неуклонное прогрессирование, в конечном счете, приводящее к необратимым фиброзным изменениям паренхимы с развитием экзо- и эндокринной недостаточности ПЖ. Таким образом, комплексная оценка изменений уровней изучаемых цитокинов открывает новые перспективы для разработки способов дифференцированных подходов в терапии этого заболевания на различных этапах его развития.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Буевров А.О. Медиаторы воспаления и поражение поджелудочной железы // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 1999.— № 4.— С. 15—23.
2. Б. Лоренс Риггз, Л. Джозеф Мелтон III. Остеопороз.— М.— СПб: ЗАО «Издательство БИНОМ», Невский диалект, 2000.— 560 с.
3. Гельцер Б.И., Маркелова Е.В., Просекова Е.В. Система цитокинов и болезни органов дыхания // Тер. архив.— 2002.— № 11.— С. 94—98.
4. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление.— 2003.— Т. 2, № 3.— С. 20—35.
5. Зубова С.Г., Окулова В.Б. Молекулярные механизмы действия фактора некроза опухолей  $\alpha$  и трансформирующего фактора роста  $\beta$  в процессе ответа макрофага на активацию // Иммунология.— 2001.— № 5.— С. 18—22.
6. Игнатъева Г.А. Современные представления об иммунитете (контуры общей теории) // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.— 2003.— № 2.— С. 2—8.
7. Кендзерська Т.Б., Христич Т.М., Шоріков Є.І. Прогностичні критерії поєданого перебігу хронічного панкреатиту та ішемічної хвороби серця // Укр. терапевт. журн.— 2005.— № 1.— С. 22—24.
8. Ковалева О.Н., Амбросова Т.Н. Биологические эффекты интерлейкина-1 // Врачебная практика.— 2001.— № 2.— С. 94—98.
9. Крылова Е.А. Современные представления о цитокинах и их роли в диагностике и лечении // Гастроэнтерология: Міжвідомчий збірник. Дніпропетровськ.— 2001.— Вип. 32.
10. Майкова Т.В. Состояние ультрадианного ритма секреторной активности желудка при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, сочетанной с хроническим бескаменным холециститом и хроническим панкреатитом // Укр. терапевт. журн.— 2004.— № 3.— С. 76—79.
11. Мицюра Д.И. Взаимосвязь уровня кальция в плазме крови и выраженности клинических симптомов перфоративной гастродуоденальной язвы // Клінічна хірургія.— 1995.— № 4.— С. 26—28.
12. Ольбинская Л.И., Игнатенко С.Б. Роль системы цитокинов в патогенезе хронической сердечной недостаточности // Тер. архив.— 2001.— № 12.— С. 82—84.
13. Пасиешвили Л.М. Клеточно-опосредованный и гуморальный иммунитет у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с хроническим панкреатитом // Экспериментальная и клиническая медицина.— 2000.— № 1.— С. 97—100.
14. Стародуб Є.М., Галицький В.А. Апоптоз та його роль при гастроентерологічних захворюваннях // Сучасна гастроентерологія.— 2002.— № 1.— С. 4—9.

15. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология.— 2001.— № 5.— С. 4—7.

16. Христич Т.Н., Кендзерская Т.Б., Волощук Т.И. Первичные медиаторы воспаления в патогенезе рецидивирования хронического панкреатита // Сучасна гастроентерологія.— 2001.— № 1.— С. 35—39.

17. Царегородцева Т.М., Зотина М.М., Серова Т.И. Интерлейкины при хронических заболеваниях органов пищеварения // Тер. архив.— 2003.— № 2.— С. 7—9.

18. Царегородцева Т.М., Серова Т.И. Цитокины в гастроэнтерологии.— М.: Анархист, 2003.— 96 с.

19. Hanck C., Rossol S., Hartmann A., Singer M.V. Cytokine gene expression in peripheral blood mononuclear cells reflects a systemic immune response in alcoholic chronic pancreatitis // Int. J. Pancreatol.— 1999.— Dec.— Vol. 26, N 3.— P. 137—139.

20. Mc Alindon M.E., Mahida I.R. Cytokines and gut // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.— 1997.— Vol. 9, N 11.— P. 1045—1050.

## ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОЦІНКИ СТАНУ ЦИТОКІНОВОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ ПРІ ХРОНІЧНОМУ ПАНКРЕАТИТІ

Л.М. Пасієшвілі, М.В. Моргуліс

Проведено аналіз показників цитокинової ланки імунітету у хворих на хронічний панкреатит. Досліджено зміни рівнів інтерлейкіну-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ), фактора некрозу пухлини  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) та гранулоцитарного колонійстимулювального фактора (Г-КСФ) в різні періоди захворювання. Простежено зв'язок цих змін з тривалістю хронічного панкреатиту та їхній вплив на тяжкість і характер перебігу патологічного процесу. Комплексна оцінка змін цитокинового статусу сприятиме розробленню нових підходів до терапії цього захворювання на різних етапах його розвитку.

## PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE STATE OF CYTOKINE IMMUNITY LINK AT CHRONIC PANCREATITIS

L.M. Pasiyeshvili, M.V. Morgulis

The analysis of the indicators of cytokine immunity link in patient with chronic pancreatitis has been held. The changes of IL-1 $\beta$ , tumor necrosis factor FNO- $\alpha$  and G-CSF levels have been studied in different periods of the disease. Association of these changes and duration of chronic pancreatitis as well as their effects on the severity and character of the pathologic process course has been studied. Complex evaluation of the changes of cytokine status would favor the development of new approaches to the therapy of this disease on the different stages of its progression.