

© Татарчук О.М.

УДК: 616.37-002+576.8.097.29

Татарчук О.М.

ДУ "Інститут гастроентерології НАМН України", лабораторія мікробіології та імунології (пр. Правди, 96 м. Дніпропетровськ, 49074, Україна)

РІВЕНЬ ЦИТОКІНІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПАНКРЕАТИТ

Резюме. Обстежено 53 хворих на хронічний панкреатит (ХП), які були розділені на 4 групи в залежності від ступеня фіброзу у підшлунковій залозі (ПЗ), встановленому при морфологічному дослідженні біоптатів, згідно класифікації М. Stolte (1987): I група (n=5), II - (n=7), III - (n=12), IV - (n=29). У сироватці крові визначали рівень IL-6, IL-10, TNF- α та TGF- β 1. У хворих на хронічний панкреатит розвиток фіброзу підшлункової залози супроводжується збільшенням рівня IL-6, TNF- α та TGF- β 1.

Ключові слова: хронічний панкреатит, ступінь фіброзу підшлункової залози, цитокіни.

Вступ

Проблеми патології гепатобіліарної системи є однією з найбільш складних та актуальних у сучасній клінічній медицині, що зумовлено тяжкістю ідентифікації та диференціальної діагностики хронічних захворювань підшлункової залози (ПЗ), а також труднощами лікування даної патології.

Серед різноманітних механізмів пошкодження ПЗ найбільш значимим патогенетичним фактором панкреатиту є запалення. Пусковим моментом у прогресуванні запального процесу є викид помірної кількості цитокінів у системний кровообіг з вогнища запалення. З одного боку, цей процес необхідний для запуску "гостро запальної" відповіді. З другого боку, порушення динамічної рівноваги в системі взаємовідношень прозапальних (інтерлейкін-1 - IL-1, фактор некрозу пухлин α - TNF- α та ін.) і протизапальних (інтерлейкін-4 - IL-4, інтерлейкін-10 - IL-10) цитокінів призводить до накопичення їх в системному кровообігу і реалізації їх деструктивних ефектів в організмі [Яцишин та ін., 2013; Царегородцева та др., 2003; Клименко, 2013].

Підвищення продукції цитокінів свідчить про активність патологічного процесу, а дефіцит їх - про пригнічення неспецифічного захисту, що також негативно впливає на перебіг ХП [Фрейдлин, 2001; Пасиешвили, Моргулис, 2004; Симбирцев, 2004;].

Встановлено, що низка цитокінів бере участь у процесах фіброгенезу ПЗ. Зірчасті клітини, які відіграють значну роль у фіброзуванні ПЗ, активуються прозапальними цитокінами гострофазної відповіді (TGF- β 1, IL-1, IL-6, TNF- α). Підвищена активність TGF- β 1 і деяких інших ростових факторів може приводити до гіперпроліферативних процесів, таким як гломерулонефрит, склерозуванню шкіри, цирозу печінки та ін., а також до прогресуючого пухлинного росту. TGF- β 1 - грає основну роль у фіброгенезі ПЗ, він стимулює ріст клітин мезенхімального походження і посилює синтез протеїнів екстрацелюлярного матриксу, таких як колаген, фібронектин і протеоглікани [Минушкін, 2002; Gibo et al., 2005; Derynck et al., 2007].

У наш час залишаються не до кінця вивченими імунологічні механізми розвитку фіброзу ПЗ при хронічному панкреатиті.

Мета роботи: оцінити рівень цитокінів у хворих на хронічний панкреатит з фіброзом підшлункової залози.

Матеріали та методи

Обстежено 53 хворих на хронічний панкреатит (ХП) з фіброзом ПЗ, які знаходилися на лікуванні у відділі хірургії органів травлення ДУ "Інститут гастроентерології НАМН України". В залежності від ступеню фіброзу ПЗ за Stolte [Яцишин та ін., 2013], встановленому морфологічно в біоптатах ПЗ, отриманих під час хірургічного втручання, хворі на ХП були поділені наступним чином: I ступінь фіброзу ПЗ (n=5); II ступінь фіброзу ПЗ (n=7); III ступінь фіброзу ПЗ (n=12); IV ступінь фіброзу ПЗ (n=29).

Контрольну групу склали 15 практично здорових людей (донорів).

Вміст TGF- β 1 визначали імуноферментним методом тест набором фірми "Bender MedSystems", Австрія. Принцип метода ELISA засновано на кількісному визначенні антигену безпосередньо його послідовного зв'язування "сендвич" зі специфічними до нього антитілами. Дослідження проводили відповідно інструкції для тест - набору. Результати дослідження визначали в пг/мл.

Кількісне визначення концентрації IL-6, IL-10, TNF- α у сироватці крові проводили за допомогою ІФА з використанням тест-систем ЗАО "Вектор-бест" (м. Новосибирськ) за рекомендаціями виробника. Вміст IL-6, IL-10, TNF- α у досліджуваних зразках визначали за допомогою каліброваних кривих із значеннями оптичної щільності стандартних зразків. Результати дослідження визначали в пг/мл. Імуноферментний аналіз проводили за допомогою імуноферментного аналізатору "Stat Fax 303 Plus" (США).

Усі вихідні дані, отримані при виконанні роботи, з метою оптимізації математичної обробки вводили до бази даних, побудовану за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel. Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали методами варіаційної статистики, реалізованими стандартним пакетом прикладних програм Statistica for Windows 6.0. Для статистичного аналізу даних використовували описову статистику: M - середнє значення показника, m - помилка визна-

Таблиця 1. Рівень цитокінів у хворих на ХП з різним ступенем фіброзу, (M±m).

Показники	I ступінь фіброзу (n=5)	II ступінь фіброзу (n=7)	III ступінь фіброзу (n=12)	IV ступінь фіброзу (n=29)	Контрольна група (n=15)
IL-6, пг/мл	38,98±10,74*	64,73±47,97	13,93±5,48 [~]	42,42±12,31*/**	9,7±2,24
IL-10, пг/мл	21,0±4,61	22,14±5,56	19,83±3,94*	17,35±2,53*	28,6±1,83
TNF-α, пг/мл	19,73±10,65	29,23±20,6	31,23±22,56	42,4±14,43*	2,20±0,81
TGF-β1, пг/мл	7860±1110,0	14016,3±2911,8	22816±6226,4* [~]	39148,4±4738,5* ^{~&***}	8525,5±2218,5

Примітки: * p<0,05 - достовірність відмін порівняно з контрольною групою; [~] p<0,05- достовірність відмін порівняно з показниками у хворих на ХП з I ступенем фіброзу; [^] p<0,05 - достовірність відмін порівняно з показниками у хворих на ХП з II ступенем фіброзу; ** p<0,05 - достовірність відмін порівняно з показниками у хворих на ХП з III ступенем фіброзу.

чення середнього, порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричного методу (t-критерію Стьюдента) за нормального розподілу даних ознак, що виражені в інтервальній шкалі. Відповідність виду розподілу ознак закону нормального розподілення перевіряли за допомогою методу Шапіто-Уїлка. В інших випадках використовували непараметричний метод (U-критерій Мана-Уїтні). Різниця середніх значень показників вважали достовірною при p<0,05 та p<0,001.

Результати. Обговорення

Проведені нами дослідження рівня цитокінів показали, що у хворих з I ступенем фіброзу відмічається підвищення рівня прозапального IL-6 у всіх хворих, рівня TNF-α у 60,0% хворих. У середньому IL-6 підвищено в 4 рази, (p<0,05) та TNF-α - в 9 разів, (p<0,05) (табл. 1), тоді як рівень протизапального IL-10 був підвищеним лише у 20,0% хворих, а у 80,0% - був у межах норми.

Рівень TGF-β1 у всіх хворих з фіброзом I ступеня був у межах норми. Ці показники вказують на активацію імунної системи при I ступені фіброзу ПЗ.

У всіх хворих з II ступенем фіброзу встановлюються високими рівні IL-6 та TNF-α, (p>0,05). Вміст TGF-β1 у всіх хворих був у межах норми. У хворих на ХП з II ступенем фіброзу ПЗ високий рівень прозапальних цитокінів на фоні відсутності адекватного інгібування протизапальних цитокінів може розглядатися як один з механізмів хронізації процесу.

У хворих на ХП при III ступені фіброзу рівень IL-6 підвищено в 1,4 рази, але він був достовірно знижений відносно рівня при I ступені фіброзу. Більш низьких рівнів IL-6 в крові свідчить про більш сприятливий перебіг захворювання у пацієнтів з III ступенем фіброзу. Вміст IL-10 у цих хворих достовірно знижено в 1,4 рази, TNF-α - підвищено в 14,2 рази в порівнянні з групою контролю. У хворих на ХП при III ступені фіброзу рівень TGF-β1 достовірно підвищується в 2,8 разів відносно контрольної групи та цього показника у хворих з I ступенем фіброзу.

У хворих на ХП при IV ступені фіброзу нами вста-

новлено значне підвищення TGF-β1 у 4,6 рази (p<0,01), підвищення TNF-α у 19,3 рази (p<0,05), підвищення IL-6 в 7,5 рази (p<0,05) у порівнянні із групою контролю. Рівень IL-10 у середньому достовірно був знижений відносно середніх значень контрольної групи. Вміст IL-6 достовірно підвищено в 3 рази відносно рівня у хворих з III ступенем фіброзу. Кількість TGF-β1 підвищена відносно цих показників у хворих з I, II та III ступенем фіброзу ПЗ відповідно в 5 разів, у 2,8 рази та в 1,7 рази, (p<0,05).

Високий рівень прозапальних цитокінів IL-6, TNF-α та низька активність протизапального медіатора IL-10 визначають активність процесу, їх тривала циркуляція у хворих на ХП асоціюється з край несприятливим прогнозом [Яцишин та ін., 2013]. При дисбалансі про- та протизапальних медіаторів в бік перших запалення при панкреатиті підсилюється. Прозапальні цитокіни IL-6, TNF-α підвищують синтез колагена панкреатичних зірчастих клітин, або підвищують експресію ростових факторів в ПЗ (наприклад, TGF-β1), які вже в свою чергу активують панкреатичні зірчасті клітини. Постійна їх активність та продукція ними колагену, фібронектину та інших компонентів екстрацелюлярного матриксу, обумовлює прогресування панкреофіброзу. Це може бути фактором загострення захворювання та хронізації процесу.

Таким чином, на підставі отриманих даних можливо припустити, що IL-6, TNF-α, TGF-β1 відіграє велику роль в прогресуванні ХП за рахунок посилення запальної реакції, що сприяє посиленню цитотоксичних реакцій і як наслідок - імунокомплексне ураження і фіброз ПЗ.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Цитокіни відіграють важливу роль в прогресуванні ХП і імунокомплексних ураженнях ПЗ.

У перспективі для клінічної практики представляється цінною пошук сироваткових показників активності фіброгенезу і можливість оцінки в динаміці процесів фіброгенезу і факторів, які на них впливають.

Список літератури

- Клименко М.В. Особенности цитокиновой реактивности при остром и хроническом панкреатите /М.В. Клименко //Укр. журнал хірургії. - 2013. - №2-21). - С. 16-24.
- Минушкин О.Н. Хронический панкреатит: некоторые аспекты патогенеза, диагностики и лечения /О.Н. Минушкин //Consilium-Medicum. - 2002. - Т.4, №1. - С. 11-15.
- Пасишвили Л.М. Состояние и роль цитокинового звена иммунитета в

- становлени и прогрессировани заболеваний пищеварительного канала /Л.М.Пасишвили, М.В.Моргулис //Сучасна гастроентерол. - 2004. - №3. - С.8-11.
- Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С.Симбирцев //Цитокины и воспаления. - 2004. - №2. - С.16-22.
- Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции /И.С.Фрейдлин // Иммунология. - 2001. - №5. - С.4-7.
- Царегородцева Т.М. Интерлейкины при хронических заболеваниях органов пищеварения /Т.М.Царегородцева, М.М.Зотина, Т.И.Серова //Тер. архив. - 2003. - №2. - С.7-9.
- Яцишин Р.І. Діагностичні перспективи визначення маркерів запалення у сечі у хворих на хронічний пієлонефрит /Р.І.Яцишин, І.С.Лисянська, Н.М.Коваль //Галицький лікар. вісник. - 2013. - №4. - С.66-68.
- Camostate mesilate attenuates pancreatic fibrosis via inhibition of monocytes and pancreatic stellate cells activity /F.Gibo, T.Ito, K.Kawabe [et al.] //Lab. Investigation. - 2005. - Vol.85, №1. - P.75-89.
- Derynck R. TGF- α signalling in tumor suppression and cancer progression / R.Derynck, R.J.Akhurst, A.Balmain // Nature Genet. - 2007. - Vol.29. - P.117-126.

Татарчук О.М.

УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ

Резюме. *Обследовано 53 больных хроническим панкреатитом, которые были разделены на 4 группы в зависимости от степени фиброза в поджелудочной железе, установленному (согласно классификации M.Stolte (1987)) при морфологическом исследовании биоптатов: I группа (n=5), II - (n=7), III - (n=12), IV - (n=29). В сыворотке крови определяли уровень IL-6, IL-10, TNF- α и TGF- β 1. У больных хроническим панкреатитом развитие фиброза поджелудочной железы сопровождается увеличением уровня IL-6, TNF- α и TGF- β 1.*

Ключевые слова: *хронический панкреатит, степень фиброза поджелудочной железы, цитокины.*

Tatarchuk O.M.

LEVEL OF CYTOKINES FOR PATIENTS ON CHRONIC PANCREATITIS

Summary. *The results of treatment 53 patients with chronic pancreatitis (CP) have been analyzed. All cases have been divided into four groups by the morphological study of the biopsy material, depending on the degree of fibrosis in the pancreas according to the classification of M.Stolte (1987): I (n = 5), II (n = 7), III (n = 12) and IV (n = 29) group. IL-6, IL-10, TNF- α and TGF- β 1 levels in blood serum. For patients with a chronic pancreatitis is development of fibrosis of pancreas accompanied the increase of level of IL-6, TNF- α and TGF- β 1.*

Key words: *chronic pancreatitis, the degree of fibrosis of the pancreas, cytokines.*

Рецензент: *д.мед.н. Гайдар Ю.А.*

Стаття надійшла до редакції 11.05.2015р.

Татарчук Оксана Михайлівна - к. біол. н., старший наук. сп. лабораторії мікробіології та імунології ДУ "Інститут гастроентерології НАМН України"; om_tat@ukr.net