

УДК: 616.37-002-092

## ПРОЗАПАЛЬНІ ЦИТОКІНИ ТА ЇХ ЗНАЧЕННЯ В ПАТОГЕНЕЗІ ПОЛІОРГАННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ

Переяслов А.А., Чуклін С.М., Федорів В.І.

*Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького, м.Львів*

**Ключові слова:** гострий панкреатит, поліорганна недостатність, цитокіни

**Вступ.** Невід'ємною ознакою ранньої стадії (перші 7 днів з моменту виникнення) важкого гострого панкреатиту є розвиток системних ускладнень і поліорганної недостатності, яка є основною причиною летальних випадків на ранніх стадіях захворювання [11]. Серед системних ускладнень доцільно виділити наступні: легеневі, серцево-судинні, ниркові, гематологічні та геморагічні, метаболічні і панкреатична енцефалопатія. Ще до недавня вважалося, що системні вияви захворювання зв'язані з активними протеолітичними ферментами. Поглиблене вивчення патогенезу дозволило встановити, що провідну роль у розвитку і прогресуванні гострого панкреатиту і, відповідно, поліорганної недостатності відіграють цитокіни [12]. Вони являють собою різні групи низькомолекулярних внутрішньоклітинних білків і мають багатовекторну дію. Зв'язуючись зі специфічними рецепторами на поверхні клітин-мішеней, цитокіни приймають участь у багатьох процесах, у тому числі запаленні та імунітеті.

**Матеріали та методи.** У 86 хворих на гострий панкреатит, які знаходилися на лікуванні в клініці в 1997-1999 р.р., і у 18 практично здорових донорів вивчено рівні запальних цитокінів [інтерлейкіни (ІЛ) 1, 6, 8 і фактор некрозу пухлин (ФНП)  $\alpha$ ]. Концентрація цитокінів у сироватці крові визначалася методом ELISA з допомогою стандартних наборів фірми Boehringer Mannheim (Німеччина). Важкість гострого панкреатиту визначалася за критеріями, затвердженими на Міжнародному симпозиумі з гострого панкреатиту в Атланті (США) у 1992 році. У 48 (55,8%) пацієнтів стверджено легкий, а у 38 (44,2%) – важкий перебіг захворювання. Поліорганна недостатність діагностувалась за наступними критеріями: артеріальний тиск - нижче 90 мм рт.ст.,  $pO_2$  - нижче 70 мм рт.ст., рівень креатиніну - вище 0,177 ммоль/л, тощо. Важкість поліорганної недостатності визначалася за шкалою Bernard (1995), яка включала наступні показники з їх бальною оцінкою.

	Оцінка порушення функції органа				
	0 – Норма	1 – Легка	2 – Середня	3 – Важка	4 – Екстремальна
Серцево-судинна САТ мм рт.ст.	> 90	≤ 90 Чутливе до в/в інфузій	≤ 90 Нечутливий до в/в інфузій	≤ 90 рН ≤ 7,3	≤ 90 рН ≤ 7,2
Легенева РаО <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> мм рт.ст.	> 400	400 – 301	300 – 201 Гостре пошкодження легенів	200-101 ГРДС	≤ 100 Важкий ГРДС
ЦНС Шкала Glasgow	15	14-13	12-10	9-6	≥ 5
Коагуляція Тромбоцити (x10 <sup>9</sup> /л)	> 120	120 – 81	80 - 51	50 – 21	≥ 20
Ниркова креатинін μМ/л	≤ 133	> 133 – ≤ 169	> 169 - ≤ 310	> 310 – < 440	440
Печінкова лужна фосфатаза МО/л	≤ 120	> 120 - ≤ 180	> 180 - ≤ 250	> 250 – < 320	> 320

САТ - систолічний артеріальний тиск

PO<sub>2</sub> - парціальний тиск кисню

FiO<sub>2</sub> - фракція чистого кисню

ГРДС - гострий респіраторний дистрес-синдром

ЦНС - центральна нервова система

Результати досліджень та їх обговорення. Вже в перший день перебування у клініці у хворих з панкреонекрозом і поліорганною недостатністю стверджено підвищені рівні всіх цитокінів порівняно із їх рівнем у хворих з набряковим панкреатитом і контрольною групою (табл.).

Спорідненість рецепторів для ІЛ-1β набагато вища, ніж для ІЛ-1α. На рівні реалізації ефектів ця різниця стає особливо помітною, тому у вивченні впливу на патогенез поліорганної недостатності при ГП більшу увагу звертали на рівні ІЛ-1β.

Таблиця 2

Сироваткові рівні запальних цитокінів при ГП (X±SD)

	ІЛ-1α (пг/мл)	ІЛ-1β (пг/мл)	ІЛ-6 (пг/мл)	ІЛ-8 (пг/мл)	ФНП-α (пг/мл)
Контрольна група (n=18)	29,31± 7 18	1,14 ± 0,58	33,67 ± 8,12	14,11 ± 2,05	2,42 ± 1,76
Легкий перебіг (n=48)	34,09 ± 10,92	6,52 ± 2,58*	149,02 ± 76,55*	97,02 ± 35,55*	7,45 ± 2,52*
Важкий перебіг (n=38)	45,93 ± 26 81*	9,57 ± 2,17**	603,51 ± 434 62**	180,30 ± 42 29**	18,52 ± 6 66**

\* - достовірність по відношенню до контрольної групи (p<0,05)

\*\* - достовірність по відношенню до хворих з легким перебігом (p<0,001)

Розвиток поліорганної недостатності у хворих на важкий панкреатит чітко корелював з рівнями прозапальних цитокінів.

Виходячи з біологічної дії, ІЛ-1β при гострому панкреатиті призводить до наступних виявів, що чітко корелює з результатами наших досліджень:

Гіпотензія шляхом генерації трьох низькомолекулярних медіаторів: продуктів циклооксигенази; фактора активування тромбоцитів й оксиду азоту [4, 9].

Гіпертермія та енцефалопатія впливаючи на ендотеліальні утворення навколошлуночкових

ділянок, де нема суцільного гематоенцефалічного бар'єра, з виділенням продуктів метаболізму арахідонової кислоти [5].

Пригнічення синтезу альбуміну, трансферину, ліпопротеїну і цитохрому викликаючи зниження транскрипції кодуючої РНК [5].

Гіпопротеїнемія в наслідок прямого впливу на клітини печінки [6].

Місцева гіпертермія, тромбози, набряк, тканинні інфільтрати через дію на ендотеліальні клітини посилюючи експресію молекул адгезії та підвищуючи їх прокоагулянтну активність, а також

проникність капілярів [2].

Високі рівні ФНП- $\alpha$  при гострому панкреатиті поглиблюють поліорганну недостатність.

ФНП- $\alpha$  разом з ІЛ-1 $\beta$  діє на ендотеліальні клітини, підвищуючи їх прокоагулянтну активність (стимулює синтез інгібітора активатора плазміногену, простагліцину, молекул адгезії, а також відкладання фібрину), збільшує проникність та індукує синтез інших запальних медіаторів, таких як ІЛ-1 і ФАТ. У нейтрофілах, клітинах гладких м'язів і ендотеліальних клітинах ФНП індукує синтез оксиду азоту і супероксид аніону. ФНП- $\alpha$  у нейтрофілах сприяє вивільненню лейкотрієну В<sub>4</sub> і ФАТ [3].

ФНП- $\alpha$  один чи сумісно з іншими медіаторами спроможний викликати стан шоку, при якому гіпотензія, розлади ліпідного й вуглеводного метаболізму, різке збільшення рівня катехоламінів, глюкагону та глюкокортикостероїдних гормонів у плазмі, метаболічний ацидоз, індукція цистеїнових лейкотрієнів, ФАТ, геморагічний інфаркт і некроз хворого органа можуть призвести до смерті [1]. Крім того, ФНП викликає підвищення температури тіла, блювання, анорексію і швидке виснаження. Введення, в експерименті, ФНП призводить до легеневої та поліорганної недостатності, що асоціюється з лейкосеквестрацією та розвитком у периферичній крові нейтрофілії і лімфоцитопенії [10].

Дію ІЛ-1 $\beta$  і ФНП- $\alpha$  при гострому панкреатиті потягує ІЛ-6 - поліфункціональний цитокін, який регулює імунну відповідь, гострофазові реакції та гемопоез. Його дія виявляється гіпертермією, індукцією білків гострої фази (С-реактивний білок, фібриноген,  $\alpha_1$ -антитрипсин), зниженням синтезу альбумінів [7]. Рівень ІЛ-6 і С-реактивного білка чітко корелював з важкістю перебігу гострого панкреатиту. Крім того, ІЛ-6 спроможний посилювати цитотоксичну дію Т-лімфоцитів проти ацинарних клітин підшлункової залози [8].

Одним з важливих чинників у розвитку і прогресуванні поліорганної недостатності при гострому панкреатиті є ІЛ-8. Він активує різноманітні функції нейтрофілів, призводить до вивільнення з них біологічно активних речовин (у першу чергу таких, як мієлопероксидаза, еластаза, метаболіти арахідонової кислоти, активні метаболіти кисню, тощо) з посиленням нейтрофільної інфільтрації різних тканин, з наступним їх пошкодженням [13].

Розвиток основних виявів поліорганної недостатності при деструктивному панкреатиті пов'язаний із синергічною дією прозапальних цитокінів. При значеннях ІЛ-1 $\beta$   $\geq$  12,0 пг/мл і ФНП- $\alpha$   $\geq$  20,0 пг/мл спостерігали найважчий перебіг ГП – з гіперлейкоцитозом, гіпертермією, вираженими ознаками поліорганної недостатності та поширеними некрозами. При рівнях ІЛ-1 $\beta$  і ФНП- $\alpha$   $\leq$  6,0 пг/мл у жодного хворого не спостерігали явищ поліорганної недостатності. Слід зазначити, що ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$  не є

необхідною умовою для ініціації гострого панкреатиту, проте без їхньої участі неможливий важкий перебіг захворювання.

Серцево-судинна недостатність найчастіше пов'язана з гіповолемією, депресією міокарда. Розвиток гіповолемії зумовлений секвестрацією рідини у просвіт кишок, втратою при блюванні, а також зростанням проникності судин під впливом ІЛ-1 $\beta$  і ФНП- $\alpha$ . Зниження артеріального тиску, яке спостерігали у 23% хворих з одного боку є результатом гіповолемії, з іншого прямої гіпотензивної дії ІЛ-1 $\beta$  і ФНП- $\alpha$ .

Без сумніву, гіповолемія відіграє важливу роль у розвитку ішемії підшлункової залози. Вазоспазм, пошкодження ендотелію, внутрішньосудинне згортання і зростання проникності капілярів, що виявляється у набряку, зростанні гемаконцентрації і порушення венозного відтоку є додатковими чинниками, що сприяють ішемії залози.

Спланхнічний кровоплин страждає внаслідок гіповолемії, а потім покращується після поповнення об'єму циркулюючої рідини. Надмірно виражений і тривалий вазоспазм призводить до ішемії слизової оболонки шлунка і кишок, а наступне реперфузійне пошкодження сприяє проходженню ендотоксину бактерій через слизовий бар'єр, що зумовлює розвиток інфікування вогнищ некрозу і парапанкреатичних скупчень рідини.

Гіповолемія у хворих на гострий панкреатит поєднується з вираженими водно-електролітними розладами. Вивчення впливу прозапальних цитокінів на сироваткові рівні калію і натрію показало, що існує зворотній кореляційний зв'язок між рівнем ІЛ-1 $\beta$  і цими електролітами. Зниження рівня натрію (<137 мМ/л) призводить до гіпотонічної дегідратації і внутрішньоклітинної гіпергідратації. Зниження калію в сироватці крові поглиблює серцеву слабкість, може потенціювати аритмію, що сприяє розвитку серцево-судинної недостатності. Крім того, гіпокаліємія посилює явища динамічної кишкової непрохідності.

Легенева недостатність з розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) є найчастішим ускладненням ранніх стадій ГП (до 30% хворих). Однією з причин її розвитку є зростання проникності капілярів паренхіми легень посилення артеріо-венозного шунтування, внаслідок дії ІЛ-8 і ФНП- $\alpha$ . Виділення активованими нейтрофілами еластази,  $\beta$ -глокоронидази і мієлопероксидази призводить до руйнування сурфактанта, що посилює гіпоксемію.

Гіповолемія, формування мікротромбів, що призводить до погіршення спланхнічного кровоплину, розвиток тубулярних некрозів, які є результатом дії прозапальних цитокінів, сприяють розвитку ниркової недостатності, яку спостерігали у 14% хворих.

Особливостями метаболічних розладів при гострому панкреатиті є гіпокальціємія і гіперглікемія. Збільшення внутрішньоклітинного

кальцію розглядається як один із важливих тригерних механізмів гострого панкреатиту. Зниження сироваткового кальцію пов'язано з вивільненням кальцитоніну під впливом дії глюкагону, а також в результаті конкуруючої дії паратгормону з одного боку, та АКТГ кортикостероїдними гормонами, з іншого, синтез яких стимулюється прозапальними цитокинами. Це підтверджується наявністю чіткої зворотної залежності між рівнями кальцію і запальних цитокинів у плазмі крові.

Виражена стимуляція синтезу контрінсулярних гормонів прозапальними цитокинами приводить до гіперглікемії, корегувати яку введенням інсуліну іноді доволі важко.

**Висновки.** Можливості хірургічного втручання для корекції поліорганної недостатності обмежені.

Крім того, відомості з літератури і власні спостереження свідчать про те, що після оперативного втручання значно зростає рівень прозапальних цитокинів. У пацієнтів з вихідними високими їх рівнями це призводить до поглиблення розладів систем організму.

Таким чином надмірна і неконтрольована продукція запальних цитокинів є причиною розвитку поліорганної недостатності у хворих із важким перебігом гострого панкреатиту. Використання препаратів з вираженою антицитокіновою дією, серед яких доцільно виділити наступні: пентоксифілін, кортикостероїди, цитостатики, аденозін естрогени пом'ягшує негативні ефекти цих цитокинів і покращує результати лікування цієї категорії хворих.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Сулов А. П. Макрофаги и противоопухолевый иммунитет // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Онкология.-1990.-Т.19.-168 с.
2. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина.-1999.-607с.
3. Aggarwal B.B., Natarajan K. Tumor necrosis factors: Development during the last decade // Eur. Cytokin Netw.-1996.-Vol.7, N2.-P.93-124.
4. Beasley D., Schwartz J.H., Brenner B.M. Interleukin 1 induces prolonged L-arginine-dependent cyclic guanosine monophosphate and nitrite production in rat vascular smooth muscle cells // J. Clin. Invest.-1991.-Vol.87.-P.602-608.
5. Dinarello C.A. Interleukin-1. In: The Cytokine handbook. A.Thomson (Edit.) Academic Press. Harcourt Brace & Company, Publishers, London, San Diego.-1994.-P.31-56.
6. Dinarello C.A., Wolff S.M. The role of interleukin-1 in disease // N. Engl. J. Med.-1993.-Vol.328.-P.106-113.
7. Heinrich P.C., Castell J.V., Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response // Biochem. J.-1990.-Vol.256.-P.621-636.
8. Kishimoto T. The biology of interleukin-6 // Blood.-1989.-Vol.74.-P.1-10.
9. Okusawa S., Gelfand J.A., Ikejima T., Connolly R.J., Dinarello C.A. Interleukin-1 induces a shock-like state in rabbits: Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition // J. Clin. Invest.-1988.-Vol.81.-P.1162-1172.
10. Osman M.O., Jensen S.L. Acute pancreatitis: the pathophysiological role of cytokines and integrins // Dig. Surg.-1999.-Vol.16.-P.347-362.
11. Renner J.G., Savage W.T.I., Pantoja J.L., Renner V.J. Death due to acute pancreatitis: A retrospective analysis of 405 autopsy cases // Dig. Dis. Sci.-1985.-Vol.30.-P.1005-1011.
12. Rinderknecht H. Fatal pancreatitis, a consequence of excessive leukocyte stimulation? // Int. J. Pancreatol.-1988.-Vol.3.-P.105-112.
13. Van Damme J., Rampart M., Conings R. The neutrophil-activating proteins interleukin 8 and  $\beta$ -thromboglobulin: in vitro and in vivo comparison on  $\text{NH}_2$ -terminally processed forms // Eur. J. Immunol.-1990.-Vol.20.-P.2113-2118.

## SUMMARY

### MEANS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE PATHOGENESIS OF MULTIPLE ORGAN FAILURE ON ACUTE PANCREATITIS

**A. Perejaslov, S. Chooklin**

Evaluated the role of the proinflammatory cytokines in the development of multiple organ failure on acute pancreatitis. Development of the organ dysfunction clear correlated with serum levels of proinflammatory cytokines.

**Key words:** acute pancreatitis, multiple organ failure, cytokines