

Спонтанная и индуцированная продукция основных провоспалительных цитокинов и их уровни в плазме у пострадавших с тяжелой политравмой.

И.Р.Малыш, Л.В.Згржебловская.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика (ректор – академик Вороненко Ю.В.), Киевская городская клиническая больница скорой медицинской помощи (главный врач-к.мед.н. Ткаченко А.А.)

Статья посвящена изучению показателей спонтанной и индуцированной продукции провоспалительных цитокинов, их уровней в плазме у тяжелотравмированных. Выявлено, что цитокиновый профиль у пострадавших с тяжелой политравмой характеризуется постоянно повышенным уровнем в плазме провоспалительных цитокинов в течение первых 10 суток посттравматического периода. Также доказано, что в течение 10 суток посттравматического периода отмечается значительное снижение спонтанной и индуцированной продукции иммуноцитами провоспалительных цитокинов: ФНО-альфа, Ил-1, Ил-6, наряду с возрастанием спонтанной и индуцированной продукции Ил-8. Наличие у пострадавших высоких уровней в плазме провоспалительных цитокинов на фоне их низкой спонтанной продукции иммуноцитами, возможно, свидетельствует об активации у пострадавших альтернативных путей продукции цитокинов, не поддающихся иммунологическому контролю. Снижение уровней спонтанной и индуцированной продукции провоспалительных цитокинов в течение посттравматического периода свидетельствуют с одной стороны, о нарушении активации иммуноцитов, а с другой, об истощении цитокинпродуцирующих функций иммунных клеток у пострадавших с тяжелой политравмой

Ключевые слова: политравма, провоспалительные цитокины, спонтанная продукция, индуцированная продукция

Введение.

В XXI веке тяжелые травмы стали важной и актуальной проблемой современной системы здравоохранения. Так, в Германии в 2005 году вследствие дорожно-транспортных происшествий погибло около 14 тысяч человек, в Великобритании-19 тысяч человек. В Украине в течение 2005 года травмировано 2,3 млн. человек, при этом, вследствие тяжелых травм погибло 37 тысяч человек [1]. Именно поэтому, лечение тяжелых травм является актуальной проблемой, требующей дальнейшего глубокого научного исследования и внедрения современных медицинских технологий.

Тяжелая политравма является жизнеугрожающей не только вследствие обширных и массивных повреждений, но и из-за выраженных иммунологических нарушений, развивающихся в посттравматическом периоде [2]. Проведенные Kreuzer E. и соавторами исследования показали, что у травмированных, тяжесть состояния которых при поступлении по шкале APACHE-II превышала 19 баллов, в посттравматическом периоде в 35%-50% случаев развивался синдром системного воспалительного ответа (ССВО) и синдром полиорганной недостаточности (СПОН) [3].

Причиной развития тяжелых нарушений в иммунном ответе считают: массивный некроз тканей, геморрагический шок, транслокацию эндотоксина из кишечника, все вышеперечисленные факторы вызывают значительные изменения в продукции провоспалительных медиаторов, в частности, цитокинов. Именно массивность продукции цитокинов характеризует тяжесть ССВО[4].

При тяжелой травме локализованный воспалительный процесс, направленный на регенерацию тканевого повреждения приобретает генерализованный характер, описываемый как неконтролируемая иммунная реакция с гиперактивацией неспецифических механизмов и параличом специфических реакций, что ведет к аутодеструктивному процессу [5]. Еще одной характерной чертой неконтролируемой иммунной реакции является нарушение тонкого баланса между про и противовоспалительными цитокинами [6].

Травматический шок с последующим развитием синдрома ишемии-реперфузии приводит к активации иммунокомпетентных клеток, вызывая продукцию и выделение ими провоспалительных цитокинов [7]. Следует отметить, что массивной цитокиновой продукцией обладают не только иммунциты, но и все производные гемопоэтических клеток (за исключением эритроцитов): эндотелиоциты, миоциты, фибробласты и эпителиоциты. Сразу же после травмы происходит активация цитокинпродуцирующих клеток, что ведет к росту в плазме провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и растворимых к ним рецепторов [8].

Именно продукция и массивное выделение в системный кровоток провоспалительных медиаторов является первым шагом в инициации развития ССВО [9, 10]. К основным провоспалительным цитокинам, выделяемыми иммунцитам в ответ на повреждение, гипоксию, транслокацию эндотоксина относят: фактор некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа), интерлейкин-1(Ил-1), интерлейкин-6(Ил-6), интерлейкин-8 (Ил-8), интерферон-гамма.

Уже через 15 минут после тяжелой травмы в плазме у пострадавших отмечается значимо повышенные концентрации фактора некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа) [11]. Как полагает большинство авторов, непосредственными факторами активации синтеза и высвобождения данного цитокина в кровоток являются ишемия и сопряженная с ней гипоксия тканей[11]. Именно ФНО-альфа ответственен за системное повышение в крови концентраций АКТГ, дофамина, адреналина, норадреналина, кортизола, кортикостерона, т.е всех гормонов, которые запускают и формируют так называемую «централизацию» кровообращения, благодаря чему при шоке создаются условия для достаточной перфузии головного мозга и миокарда [12], [13].

В ответ на повышение спонтанной продукции ФНО-альфа иммунцитам, у пострадавших с тяжелой травмой происходит активация синтеза и выделения Ил-1[12]. Данный цитокин отвечает за индукцию синтеза так называемых «вторичных» цитокинов: Ил-6, колониестимулирующих

факторов, хемокинов. Ил-1 также влияет на систему гемопоеза на самых различных уровнях: от незрелых клеток-предшественников до зрелых миеломоноцитарных и лимфоидных элементов. Ил-1 индуцирует продукцию колониестимулирующих факторов в различных типах клеток, включая стромальные клетки костного мозга [12].

Как показали иммунологические исследования, через 3-6 часов после травмы отмечается повышение в плазме уровня Ил-6, причем его уровень остается высоким в течение 5-20 суток посттравматического периода [14]. Резкий подъем уровня Ил-6 в посттравматическом периоде, многие авторы связывают с развитием нозокомиальных инфекций [14]. С другой стороны, Ил-6 способствует усилению синтеза глюкокортикоидов, обладающих противовоспалительным эффектом, ингибирует экспрессию ФНО-альфа и Ил-1, стимулирует экспрессию макрофагами антагониста рецептора к Ил-1 и растворимых рецепторов к ФНО-альфа [14]. Таким образом, превалирование противовоспалительных эффектов Ил-6 могут приводить к развитию у тяжелотравмированных иммуносупрессии и сепсиса [14].

В ответ на повышение спонтанной продукции ФНО-альфа, Ил-1 иммунными клетками, развитие синдрома ишемии-реперфузии, в моноцитах, нейтрофилоцитах, макрофагах, эндотелиоцитах индуцируется синтез и выделение мощнейшего хемокина – Ил-8 [15]. Данный цитокин является активатором и хемоаттрактантом как нейтрофилоцитов так и Т-лимфоцитов [16].

Интерферон-гамма является специфическим цитокином, продуцируемым Т-клетками первого типа, в плазме он появляется лишь после активации Т-клеток антигеном, прошедшим процесс антигенпрезентации [17]. Как показали иммунологические исследования, снижение уровня данного цитокина в плазме свидетельствует о нарушениях процессов антигенной презентации в макрофаге и Т-анергии, либо о превалировании на данный момент противовоспалительного компонента иммунного ответа [18].

Принимая во внимание вышесказанное, становится очевидным, что провоспалительные цитокины играют важную координирующую роль во взаимодействии иммунной, нервной и эндокринной систем, в результате чего при шоке и травме происходит экстренная перестройка регуляторных и исполнительных систем организма [19]. При благоприятном течении шока создаются предпосылки для включения реакций «отсроченной адаптации», направленных на устранение негативных последствий экстренных адаптационных процессов [20]. Однако, когда повреждающее воздействие факторов агрессии на организм сохраняется длительное время, чрезмерное напряжение реакций «экстренной адаптации» влечет за собой разобщение согласованности во взаимодействии иммунной, нервной и эндокринной систем [21]. Развивающаяся при этом реакция, поддерживаемая как некая патогенная доминанта и функционирующая в качестве генератора патологически усиленного возбуждения, формирует основу для возникновения в постшоковом периоде осложнений, в том числе и гнойно-септических [22].

Именно поэтому, в нашем исследовании мы посчитали целесообразным изучить уровень в плазме провоспалительных цитокинов, величину их спонтанной и индуцированной продукции иммунными клетками у пострадавших с тяжелой политравмой в течение 10 суток посттравматического периода].

Материалы и методы.

Обследовано 100 пострадавших в возрасте от 15 до 59 лет с сочетанными и множественными травмами. Тяжесть состояния этих пострадавших была оценена по шкале APACHE-2 и составила $29 \pm 3,5$ баллов при поступлении, тяжесть травмы по шкале ISS составляла $34 \pm 3,1$ балл .

Интенсивная терапия в период травматической болезни проводилась по единой стандартизированной методике. Анальгезия обеспечивалась путем болюсного введения омнопона 0,25 мг/кг 4 раза в сутки, седация и адаптация с аппаратом ИВЛ-путем болюсного введения тиопентала-3мг/кг 6 раз в сутки и ардуана –0,06 мг/кг 6 раз в сутки.

Для изучения спонтанной и индуцированной секреции цитокинов иммунными клетками мы исследовали мононуклеарные клетки периферической крови. Для определения уровня цитокинов использовались коммерческие наборы Diaclone. Супернатанты полученные вышеуказанной методикой, использовались для тестирования в соответствии с рекомендациями изготовителя при помощи иммуноферментного метода на приборе StatFax 303 Plus.

Результаты обработаны с помощью компьютерной программы Excel. Достоверность различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение.

Как следует из таблицы 1, уровень провоспалительных цитокинов в плазме у пострадавших с тяжелой политравмой повышался уже в первые сутки после травмы с последующим их ростом в течение 10 суток посттравматического периода.

Таблица 1.

Уровень провоспалительных цитокинов в плазме у пострадавших с тяжелой политравмой

Цитокин	Сутки		
	1-3	4-7	8-10
ФНО-альфа, пкг/мл	185,9±1,56	197,67±2,5 p1<0,0001	169,67±3,05 p1<0,0001
Ил-1, пкг/мл	115,09±1,91	94,90±1,64 p1<0,0001	98,24±2,72 p1=0,20
Ил-6, пкг/мл	193,99±2,75	176,0±2,12 p1<0,0001	155,9±2,71 p1=0,0001
Ил-8, пкг/мл	120,5±1,37	118,18±2,41 p1=0,459	117,64±3,20 p1=0,80
Интерферон-гамма, пкг/мл	102,57±2,64	93,09±2,69 p1=0,016	67,40±2,19 p1<0,0001

p1-достоверность различий в сравнении с предыдущим этапом исследования

В наибольшей степени возрос уровень ФНО-альфа, Ил-6, интерферона-гамма, все это свидетельствует о значимой активации провоспалительного компонента иммунного ответа. К 4-7 суткам посттравматического периода (2-ой этап исследования) отмечается увеличение уровня в плазме ФНО-альфа, наряду с некоторым снижением уровня Ил-1, Ил-6, интерферона-гамма, что свидетельствует о персистенции провоспалительного компонента иммунного ответа. Уровень Ил-8 (основного хемоаттрактанта для лейкоцитов) оставался на данном этапе высоким. К 8-10 суткам наблюдения уровень ФНО-альфа в плазме несколько снизился, аналогичные изменения выявлены и в содержании в плазме Ил-6 и интерферона-гамма, а уровни Ил-1 и Ил-8 оставались по-прежнему высокими.

Таким образом, цитокиновый профиль плазмы у пострадавших с тяжелой политравмой характеризуется постоянно повышенным уровнем в плазме провоспалительных цитокинов в течение первых 10 суток посттравматического периода.

Как следует из таблицы 2, в 1-3 сутки у пострадавших с тяжелой политравмой выявлена весьма высокая спонтанная продукция иммунными клетками ФНО – альфа, Ил-1, Ил-6, интерферона–гамма. Уровень спонтанной продукции Ил-8, был повышен умеренно.

Таблица 2.

Уровень спонтанной продукции иммунными клетками провоспалительных цитокинов у пострадавших с тяжелой политравмой

Цитокин	Сутки		
	1-3	4-7	8-10
ФНО-альфа, пкг/мл	142,33±4,17	138,09±4,39 p1=0,50	91,31±7,88 p1<0,0001
Ил-1, пкг/мл	172,35±4,51	147,7±3,74 p1<0,0001	78,71±4,82 p1<0,0001
Ил-6, пкг/мл	136,29±2,49	128,96±2,19 p1=0,016	107,59±3,36 p1<0,0001

Ил-8, пкг/мл	44,86±1,62	44,065±2,19 p1=0,711	55,56±1,89 p1<0,0001
Интерферон- гамма, пкг/мл	171,79±1,57	153,28±2,44 p1<0,0001	169,29±10,26 p1=0,129

p1-достоверность различий в сравнении с предыдущим этапом исследования

К 4-7 суткам посттравматического периода у травмированных было выявлено достоверное снижение продукции основных провоспалительных цитокинов: Ил-1 и интерферона-гамма. Уровень спонтанной секреции ФНО-альфа, Ил-8, Ил-10 оставался на втором этапе исследования стабильно высоким. К 7-10 суткам посттравматического периода у пострадавших с тяжелой политравмой выявлено значительное снижение спонтанной продукции иммунными клетками провоспалительных цитокинов: ФНО-альфа, Ил-1, Ил-6, в тоже время, отмечался достоверный рост спонтанной продукции Ил-8.

Как показали исследования, представленные в таблице 3, уровень индуцированной продукции цитокинов у пострадавших с тяжелой политравмой был повышен уже в 1-3 сутки посттравматического периода. К 4-7 суткам исследования у тяжелотравмированных сохранялись стабильно высокие уровни индуцированной продукции ФНО-альфа, Ил-1, Ил-8, интерферона-гамма, наряду с достоверным снижением уровня индуцированной продукции Ил-6.

Таблица 3.

Уровень индуцированной продукции иммунными клетками провоспалительных цитокинов у пострадавших с тяжелой политравмой

Цитокин	Сутки		
	1-3	4-7	8-10
ФНО-альфа, пкг/мл	169,62±4,14	164,25±3,26 p1=0,30	91,18±8,03 p1<0,0001
Ил-1, пкг/мл	180,74±5,34	179,69±6,12 p1=0,89	77,23±5,65 p1<0,0001

Ил-6, пкг/мл	142,29±1,75	128,57±2,37 p1<0,0001	120,96±2,47 p1=0,021
Ил-8, пкг/мл	64,21±3,55	68,3±2,15 p1=0,33	69,01±2,82 p1=0,84
Интерферон- гамма, пкг/мл	220,13±6,47	232,58±6,31 p1=0,18	177,0±5,61 p1<0,0001

p1-достоверность различий в сравнении с предыдущим этапом исследования

К 8-10 суткам посттравматического периода у пострадавших с тяжелой политравмой выявлено значительное снижение индуцированной продукции всех провоспалительных цитокинов: ФНО-альфа, Ил-1, Ил-6, интерферона-гамма.

Выводы.

1. Цитокиновый профиль у пострадавших с тяжелой политравмой характеризуется постоянно повышенным уровнем в плазме провоспалительных цитокинов в течение первых 10 суток посттравматического периода.
2. У пострадавших с тяжелой политравмой в течение 10 суток посттравматического периода отмечается значительное снижение спонтанной и индуцированной продукции иммунными клетками провоспалительных цитокинов: ФНО-альфа, Ил-1, Ил-6, наряду с возрастанием спонтанной и индуцированной продукции Ил-8.
3. Наличие у пострадавших высоких уровней в плазме провоспалительных цитокинов на фоне их низкой спонтанной продукции иммунными клетками, возможно, свидетельствует об активации у пострадавших альтернативных путей продукции цитокинов.
4. Снижение уровней спонтанной и индуцированной продукции провоспалительных цитокинов в течение посттравматического периода свидетельствуют с одной стороны, о нарушении активации иммунных клеток, а с другой, об истощении цитокинпродуцирующих функций иммунных клеток у пострадавших с тяжелой политравмой.

Список использованной литературы

1. Шалимов А.А., Гайко Г.В., Рощин Г.Г., Трещинский А.И. Концептуальные аспекты оказания неотложной помощи пострадавшим с травмой // Клиническая хирургия. - 2002.- №7-8.- С.44-45.
2. Darville T., Giroir B., Jacobs R. The systemic inflammatory response syndrome (SIRS): Immunology and potential immunotherapy.// Infection.-2003.-Vol. 21, №1.-P.279-290.
3. Bone R.C. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. // Crit. Care Med.- 1996.-Vol. 24, №5.-P.163-172.
4. Ackerman M.H. The systemic inflammatory response, sepsis, and multiple organ dysfunction: New definitions for an old problem. // Crit. Care Nurs. Clin. North Am.- 1994.-Vol6,№7.-P.243-250.
5. Abello P.A., Buchman T.G., Bulkley G.B. Shock and multiple organ failure.// Adv. Exp. Med. Biol.- 1994.-Vol 366, №5.-P.253-268.
6. Secor H.V. The inflammatory/immune response in critical illness.// Crit. Care Nurse Clin. North. Am. 1994.-Vol. 6, №1.-P.309-319.
7. Van der Poll T., Lowry S.F. Tumor necrosis factor in sepsis: Mediator of multiple organ failure or essential part of host defense?// Shock.- 1995.-Vol. 3, №6.-P.1-12.
8. Jansen M.M., Hendriks T., Vogels M.T. Inflammatory cytokines in an experimental model for the multiple organ dysfunction syndrome.// Crit. Care Med.-1996.-Vol.24,№4.-P.1196-1202.
9. Pinsky M.R., Vincent J.L., Deviere J. Serum cytokine levels in human septic shock: Relation to multiple-system organ failure and mortality.// Chest.-2002.-Vol. 103,№3.-P.565-575.
10. Roumen R.M.H., Hendriks T., van der Ven-Jongenkrijck J. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma.//Ann.Surg.-1993.-Vol.218,№6.-P.769-776.
11. Majetschak M., Flach R., Heukamp T. Regulation of whole blood tumor necrosis factor production upon endotoxin stimulation after severe blunt trauma. //J.Trauma.-1997.-Vol.14,№2.-P.112-116.

12. Svodoba P., Kantorova I., Ochmann J. Dynamics of interleukin 1, 2, and 6 and tumor necrosis factor alpha in multiple trauma patients. // J. Trauma.- 1994.-Vol. 36,,№7.-P.336-340.
13. Michie H.R., Spriggs D.R., Manogue K.R. Tumor necrosis factor and endotoxin induce similar metabolic responses in human beings. // Surgery.-1998.-Vol.104,№7.-P.280-286.
14. Tilg H., Dinarello C.A., Mier J.W. IL-6 and APPs: Anti-inflammatory and immunosuppressive mediators.// Immunol. Today.- 1997.-Vol.18, №4.-P.428-432
15. Luster A.D. Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. // N. Engl. J. Med.- 1998.-Vol. 338, №7.-P.436-445.
16. Goodman E.R., Kleinstein E., Fusco A.M. Role of interleukin-8 in the genesis of acute respiratory distress syndrome.// Arch. Surg.-1998.-Vol. 133, №7.-P.1234-1240.
17. Pober J.S., Cotran R.S. Cytokines and endothelial cell biology. // Physiol. Rev.- 1999.-Vol.70,№2.-P.427-451.
18. Delire M. Immune disorders after severe injury. //Ann. Biol. Clin.- 1998.-Vol.46,№6.-P.272-275.
19. Abraham E., Chang Y.H. Hemorrhage induced alterations in function and cytokine production of T cells and T cell subpopulations. // Clin. Exp. Immunol.- 2003.-Vol.25,№7.-P.156-163.
20. O'Mahony J.B., Palder S.B. Wood J. Depression of cellular immunity after multiple trauma in the absence of sepsis. // J. Trauma.- 1998.-Vol. 24, №3.-P.869-875.
21. Foex B.A., Lamb W.R., Roberts T.E. Early cytokine response to multiple injury. // Injury.- 1997.-Vol. 24, №3.-P.373-376.
22. Roumen R.M.H., Redl H., Schlag G. Inflammatory mediators in relation to the development of multiple organ failure in patients after severe blunt trauma. // Crit.CareMed.-1995.-Vol.23,№6.-P.474-480.

Резюме.

I.P. Малиш, Л.В. Згржебловська. Спонтанна та індукована продукція основних прозапальних цитокінів та їх рівень у плазмі у постраждалих з тяжкою політравмою.

Київ, Україна.

Ключові слова: політравма, прозапальні цитокіни, спонтанна продукція, індукована продукція.

Стаття присвячена вивченню показників спонтанної та індукованої продукції прозапальних цитокінів, їх рівню в плазмі у тяжкотравмованих. Показано, що цитокіновий профіль у постраждалих з тяжкою політравмою характеризується постійно підвищеним рівнем в плазмі прозапальних цитокінів протягом 10 діб посттравматичного періоду. Також доведено, що протягом 10 діб посттравматичного періоду відмічається значне зниження спонтанної та індукованої продукції імуніцитами основних прозапальних цитокінів: ФНП-альфа, Іл-1, Іл-6 а також зростання спонтанної та індукованої продукції Іл-8. Наявність у тяжкотравмованих високих рівней у плазмі прозапальних цитокінів на фоні їх зниженої спонтанної продукції можливо свідчить про активацію альтернативних шляхів продукції цитокінів, які резистентні до імунного контролю. Зниження рівней спонтанної та індукованої продукції прозапальних цитокінів свідчить з одного боку, про порушення активації імуніцитів, а з іншого, про виснаження цитокінової продукції імунних клітин у постраждалих з тяжкою політравмою.

Summary

I.R. Malysh, L.V. Zgrzheblovskaya. The spontaneous and stimulated production of inflammatory cytokines and their system level in multiply-injured patients.

Kyiv, Ukraine.

Key words: multiply injury, inflammatory cytokines, spontaneous production, stimulated production.

The article is devoted to investigation of the spontaneous and stimulated production of inflammatory cytokines and their system level in of multiply-injured patients. It

was established that cytokine milieu of multiply-injured patients is characterized by increased levels of proinflammatory cytokines in blood and decrease of their spontaneous and stimulated production. The increased levels of proinflammatory cytokines in blood concomitant with the decrease of their spontaneous and stimulated production probably reflect the presence of alternative sources of cytokines, which are resistant to immune control. The decrease of spontaneous and stimulated production of cytokines reflect the impairment of immunocyte activation and exhaustion of cytokine production properties of immune cell.
