

УДК:577.112:577.175.1:616.381-002-092.19

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-5\(39\)-1393-1400](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-5(39)-1393-1400)

Стасенко Аліна Анатоліївна доктор біологічних наук, професор кафедри мікробіології та імунології, Київський національний університет імені Тараса Шевченка Навчально-науковий центр (ННЦ) “Інститут біології та медицини”, м. Київ, <https://orcid.org/0000-0003-0847-1547>

ВМІСТ ЛОКАЛЬНИХ РІВНІВ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ, ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ ТА ЦИТОКІНІВ У ХВОРИХ НА ПЕРИТОНІТ

Анотація. В патогенезі гострого перитоніту значна роль належить стану імунної реактивності організму.

Мета дослідження – визначити вміст локальних рівнів імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та цитокінів у хворих на перитоніт.

Для визначення рівнів імуноглобулінів та ЦІК в перитонеальному ексудаті було обстежено 18 пацієнтів з перитонітом. Рівні цитокінів у перитонеальному ексудаті вимірювали у 12 пацієнтів з перитонітом на 1-2 добу після операції. Групу порівняння склали 15 інтактних пацієнтів з виразковою хворобою дванадцятипалої кишки (ВХДПК) та грижею черевної стінки без ознак рецидиву захворювання, у яких досліджували вміст серозної рідини, та 14 здорових донорів, які склали контрольну групу. Нами були виявлені сироваткові імуноглобуліни в перитонеальному ексудаті пацієнтів з розлитим перитонітом на 1-2 добу післяопераційного періоду, що вказує на те, що ці імуноглобуліни потрапляли в порожнину очеревини. Однак рівні IgA та IgG в перитонеальному ексудаті були вдвічі нижчими, ніж у крові, а рівні IgM в перитонеальному ексудаті були втричі нижчими, ніж у сироватці крові.

Рівень ЦІК у перитонеальному ексудаті хворих був достовірно нижчим порівняно з сироватковим рівнем цього показника. При цьому рівень ЦІК у сироватці крові хворих був значно підвищений порівняно з контрольними значеннями у здорових осіб.

Дані щодо Th-1/запальних цитокінів показали достовірне підвищення рівня IL-1 β на тлі нормальних рівнів TNF- α та IFN- γ в перитонеальному ексудаті хворих на перитоніт; вміст Th-2/протизапального IL-10 знаходився в межах допустимого діапазону варіації відносно референтних значень у здорових осіб і був достовірно нижчим за сироваткові рівні цього показника. Він достовірно не відрізнявся від локальних рівнів цитокінів.

Ключові слова: імуноглобуліни, цитокіни, локальні рівні, перитоніт.

Stasenko Alina Anatoliivna Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Microbiology and Immunology, Educational and Research Centre "Institute of Biology and Medicine", Kyiv, National University named after Taras Shevchenko, <https://orcid.org/0000-0003-0847-1547>

LOCAL LEVELS OF IMMUNOGLOBULINS, CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES AND CYTOKINES IN PATIENTS WITH PERITONITIS

Abstract. A significant role in the pathogenesis of acute peritonitis is played by the state of immune reactivity of the body. The aim of the study was to determine the content of local levels of immunoglobulins, circulating immune complexes (CICs) and cytokines in patients with peritonitis. To determine the levels of immunoglobulins and CICs in the peritoneal exudate, 18 patients with peritonitis were examined. The levels of cytokines in the peritoneal exudate were measured in 12 patients with peritonitis on the first or second postoperative day (1-2th day) after surgery. The comparison group consisted of 15 intact patients with duodenal ulcer and abdominal wall hernia without signs of disease recurrence, in whom the serous fluid content was studied, and 14 healthy donors who formed the control group. Serum immunoglobulins were detected in the peritoneal exudate of patients with spilled peritonitis on days 1-2 postoperatively, indicating that these immunoglobulins were released into the peritoneal cavity. However, the levels of IgA and IgG in peritoneal exudate were two times lower than in blood, and the levels of IgM in peritoneal exudate were three times lower than in blood serum. The level of CICs in the peritoneal exudate of patients was significantly lower compared to the serum level of this indicator. At the same time, the level of circulating immune complexes in the blood serum of patients was significantly increased compared with the control values in healthy individuals.

The data on Th-1/inflammatory cytokines showed a significant increase in IL-1 β levels against the background of normal levels of TNF- α and IFN- γ in the peritoneal exudate of patients with peritonitis; the content of Th-2/anti-inflammatory IL-10 was within the permissible range of variation relative to the reference values in healthy individuals and was significantly lower than the serum levels of this indicator. It did not significantly differ from local cytokine levels.

Keywords: immunoglobulins, cytokines, local levels, peritonitis.

Постановка проблеми. Однією з найважливіших проблем екстреної хірургії, не дивлячись на великий прогрес у діагностиці та інтенсивній терапії, залишається перитоніт, летальність якого становить 25-30%, а при розвитку синдрому поліорганної недостатності досягає 80-90% [1]. Для зниження випадків летальних наслідків у клінічній практиці необхідно встановлення всього ланцюжка подій від пошкодження до припинення функції життєво важливих органів.

Розвиток та прогресування ендотоксикозу пов'язані з невідповідністю між утворенням токсичних субстанцій і здатністю органів, що входять у функціонувальну систему детоксикації (легені, печінка, нирки, шлунково-кишковий тракт, система імунологічного нагляду) трансформувати та

елімінувати їх, так як відбувається суттєве зниження функціонального резерву цієї системи.

Роботи останніх років показали, що в патогенезі гострого перитоніту значна роль належить стану імунної реактивності організму.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Завдяки прогресу в галузі загальної патології, молекулярної біології, імунології, стало очевидним, що розвиток органо-системних ушкоджень, перш за все, пов'язано з неконтрольованим поширенням з первинного вогнища інфекційного запалення прозапальних медіаторів, з наступною активацією під їх впливом макрофагів в інших органах та тканинах, виділення аналогічних ендогенних субстанцій [2]. Існує кореляція між стабільно високим рівнем ФНПа, ІЛ-1 і летальністю [3, 4].

Не зважаючи на широке впровадження досягнень сучасної науки в клінічну практику, проблема лікування хворих з гнійними післяопераційними ускладненнями залишається ще не вирішеною. Успіхи лікування таких хворих не можливі без фундаментальних досліджень порушень імунної системи. Численні роботи по вивченню імунного статусу у хворих з гнійними ускладненнями виявили різноманітні порушення у факторах вродженого та набутого імунітету, але трактування цих порушень неоднозначне. Це пояснюється складністю механізмів регуляції запальної і імунної реактивності як на локальному, так і на системному рівнях, залученням в процес запалення багатьох типів клітин і систем.

Мета статті – визначити вміст локальних рівнів імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів (ЦК) та цитокінів у хворих на перитоніт.

Виклад основного матеріалу

З метою визначення рівні імуноглобулінів та ЦК як показників стану гуморальної В-клітинної в перитонеальному ексудаті нами було обстежено 18 хворих на перитоніт. Рівні цитокінів в перитонеальному ексудаті визначали у 12 хворих на розлитий перитоніт на 1-2 добу після операції.

Групу порівняння становили 15 хворих з виразковою хворобою дванадцятипалої кишки (ВХ ДПК) та незащемленими килами черевної стінки, у яких не було ознак рецидиву захворювання, у яких досліджували вміст серозної рідини, та 14 здорових донорів - контрольна група.

На жаль, дослідження проведені на невеликій групі хворих і не в повному обсязі використано спектр досліджених цитокінів, що обумовлено невеликою кількістю отриманого ексудату, надзвичайно важкою формою захворюваності, великою смертністю пацієнтів з перитонітом.

Імуноглобуліни визначали методом радіальної імунодифузії в агарі по G.Mancini [5] згідно загальноприйнятому методу. Циркулюючі імунні комплекси вивчали методом поліетиленгліколь-6000 преципітацією. Визначали вміст цитокінів в сироватці крові і в ексудатах імуноферментним методом, в якому використовувалась пероксидаза хрину як індикаторний

фермент з використанням наборів реагентів "Immunotech" (Франція) та "Diaclone" (Франція).

Результати досліджень рівень імуноглобулінів та ЦІК в перитонеальному ексудаті як показників стану гуморальної В-клітинної імунітету у хворих на перитоніт представлені в табл.1.

Таблиця 1

Порівняльна характеристика гуморальних системних і місцевих факторів імунного захисту у хворих на перитоніт на 1-2 добу після операції

Гуморальні фактори (клас імуноглобулінів)	Хворі з перитонітом, периферична кров, n=18	Хворі з перитонітом, перитонеальний ексудат, n=18	Контрольна група (здорові донори), n=12
IgG, г/л	11,42±0,89	6,07±1,15**	13,5±1,8
IgA, г/л	1,46±0,14	0,88±0,23*	3,11±0,44
IgM, г/л	1,05±0,18	0,33±0,06***	0,90±0,13
ЦІК, ум.од.	1,09±0,28	0,13±0,05**	0,217±0,023

Примітка: * - *** - різниця показників між вмістом IgG, IgA, IgM, ЦІК в сироватці крові хворих та в перитонеальному ексудаті хворих достовірна (p <0,05 - p<0,001).

В перитонеальному ексудаті визначені сироваткові імуноглобуліни, що свідчить про наявність виходу цих імуноглобулінів в черевну порожнину. Виявлені знижені в 2 рази рівні IgA в сироватці крові у хворих на перитоніт в порівнянні з групою здорових осіб, що свідчить про вибіркочу трансфузію імуноглобулінів із крові в очеревину, або гальмування гуморальної Th-2 ланки. Проте в перитонеальному ексудаті не виявлені високі рівні IgA – рівень IgA, як і рівень IgG був приблизно в 2 рази нижчий в ексудаті, ніж в крові. Із цієї причини право на життя має думка, що при перитоніті розвивається порушення в продукції імуноглобулінів – селективне вибіркоче гальмування синтезу IgA, яке може свідчити, що в Th-2 ланці імунітету є певні зміни, а саме дисімуноглобулінемія із 2-кратним зменшенням рівня IgA в крові. При цьому концентрація IgM в перитонеальному ексудаті втричі нижча, що дозволяє думати, що трансфузія імуноглобулінів із крові в очеревину йде вибіркоче, або має місце гальмування гуморальної Th-2 ланки, ІІ-10.

Рівень ЦІК в перитонеальному ексудаті був достовірно знижений порівняно з сироватковими рівнями цього показника у хворих. В той же час, порівняно з контрольними величинами здорових осіб рівнів ЦІК в сироватці крові хворих були достовірно збільшені. Наші дані стосовно збільшених сироваткових рівнів ЦІК узгоджуються з літературними даними, в яких

визначення циркулюючих імунних комплексів в сироватці крові показало підвищені значення у пацієнтів з перитонітом [6].

Однак, оскільки отримані дані є унікальними, була зроблена спроба визначити природу порушення деяких прозапальних та протизапальних цитокінів (табл.2). Дані стосовно Th-1/прозапальних цитокінів показали достовірне збільшення рівнів ІЛ-1 β на фоні нормальних рівнів ФНП- α та ІФН- γ в перитонеальному ексудаті хворих на перитоніт. Незмінні рівні ІФН- γ вказують на гальмування реакцій Th-1-типу. Для хворих з перитонітом характерні порушення в Th-2/Th3 протизапальних/імунорегуляторних цитокінах. Вміст Th-2/протизапального ІЛ-10 також знаходився в межах допустимих коливань відносно сироваткових норм для здорових осіб і не відрізнялась достовірно від локальних рівнів цього цитокіну в групі порівнянь.

ІЛ-10 в перитонеальному ексудаті мав тенденцію до зменшення порівняно з системними показниками периферичної крові здорових і тенденцію до збільшення відносно перитонеального випоту групи порівнянь.

Одержані дані про порушення в цитокіновому статусі, де також виявляється значний дисбаланс як в про- так і антизапальних цитокінах співпадають з приведеними вище даними порушення в гуморальній Th-2 ланці імунітету.

Таблиця 2

Вміст цитокінів в перитонеальному ексудаті у хворих на перитоніт на 1-2 добу п/о і в крові контрольної групи та перитонеальному випоті групи порівнянь

Вміст цитокінів, пг/мл	Контрольна група (здорові), периферична кров, n=14	Хворі з перитонітом, перитонеальний ексудат, n=12	Хворі з ВХ ДПК та незащемленими килами (група порівняння), перитонеальний випіт, n=15
Th-1/прозапальні			
ФНП- α	23,0 \pm 3,3	20,7 \pm 1,5	
ІЛ-1 β	2,3 \pm 1,2	204,6 \pm 70,3***	20,9 \pm 2,9
ІФН- γ	5,73 \pm 0,32	4,6 \pm 1,9	
Th-2/протизапальні			
ІЛ-10	52,7 \pm 32,7	21,6 \pm 15,7	6,15 \pm 0,15

Примітка: *** - різниця показників між вмістом ІЛ-1 β в перитонеальному ексудаті хворих на перитоніт і хворих з килами достовірна ($p < 0,001$).

Це свідчить з одного боку про суттєві порушення в прозапальному каскаді цитокінів, яке виражається в підйомі в сотні разів рівня одних і відсутність змін у інших. Дослідженнями одних авторів показано, що на 1 день, на 3 день та на 7 день після моделювання гострого генералізованого перитоніту на тлі цукрового діабету в експерименті на щурах рівень ІЛ-1 β в сироватці крові значно зростає порівняно з інтактною групою. Рівень ФНП- α у сироватці крові групи тварин із симульованим гострим генералізованим перитонітом на першу, третю та сьому добу експерименту статистично достовірно підвищувався у 3,2, 3,3 та 3,4 рази відповідно. Рівень ІЛ-10 у сироватці крові тварин із симульованим гострим генералізованим перитонітом вірогідно знижувався на 14 % у першу добу, на 17 % на третю добу, на 15 % на сьому добу порівняно з неушкодженими тваринами [7].

В роботі інших дослідників отримані протилежні результати стосовно перитоніту. Yu Y. H. et al. (2005) повідомили, що сироваткові рівні IFN- γ і TNF- α були знижені, а рівні ІЛ-10 значно вищі у щурів з тяжким перитонітом порівняно з щурами з помірним перитонітом [8].

Ще в одній роботі показано, що присутність ІЛ-1 β після сепсису стимулює поширення, міграцію та диференціацію BMCs у CD11c-CD45RBhigh DC на традиційних імунних органах і неімунних органах, активуючи вроджений імунітет, характеризується синергічним ефектом цих органів і ослабленням сепсису [9].

Початок і основні етапи розвитку запальної відповіді контролюються в основному прозапальними цитокінами, що виробляються макрофагами, нейтрофілами і Т-клітинами у відповідь на стимуляцію бактеріальними агентами. Природно, що грамнегативний ендотоксин стимулює макрофаги та нейтрофіли виробляти TNF- α , ІЛ-1, ІЛ-12, ІЛ-8 та ІЛ-6. Екзотоксини, суперантигени грамположитивних бактерій активують Т-клітини та моноцити для вироблення ІЛ-2, ІЛ-1, TNF- α . У той же час прозапальні цитокіни відіграють захисну роль, оскільки вони забезпечують інфекцію ефекторними клітинами (нейтрофілами, макрофагами), стимулюють їх фагоцитарну, бактерицидну активність та індукують ініціацію антигенспецифічної імунної відповіді, яка разом сприяє елімінації збудника [10].

В ретроспективному дослідженні, яке охоплювало 368 пацієнтів із гострою або хронічною печінковою недостатністю, пов'язаною з вірусом гепатиту В, було встановлено, що рівні інтерлейкіну 10 (ІЛ-10) статистично суттєво відрізнялися між групою із спонтанним бактеріальним перитонітом і без. Аспартатамінотрансфераза (АСТ), сироватковий натрій, ІЛ-10 і лікування вазоактивними препаратами були незалежними факторами ризику 28-денної смертності [11].

Висновки.

1. В перитонеальному ексудаті хворих на розлитий перитоніт на 1-2 добу після операції визначені сироваткові імуноглобуліни. Рівень IgA, і рівень IgG

був приблизно в 2 рази нижчий в ексудаті, ніж в крові. В той же час, рівень IgM у перитонеальному ексудаті був в 3 рази нижчий за сироватковий рівень.

2. Встановлено достовірно знижений рівень ЦК в перитонеальному ексудаті у хворих порівняно з сироватковими рівнями цього показника. При цьому рівень ЦК у сироватці крові хворих був значно підвищений порівняно з контрольними значеннями у здорових осіб.

3. В результаті наших досліджень виявлено достовірно збільшені рівні ІЛ-1 β на фоні нормальних рівнів ФНП- α та ІФН- γ в перитонеальному ексудаті в порівнянні з аналогічними показниками в сироватці крові хворих на перитоніт.

4. Для хворих з перитонітом характерні порушення в Th-2/Th3 протизапальних/імунорегуляторних цитокінах, а саме в продукції ІЛ-10.

Література:

1. Распространенный гнойный перитонит / В.В.Бойко, И.А.Криворучко, С.Н. Тесленко А.В. Сивожезлов; Монография. – Харьков: Прапор. 2008. – 280 с.
2. Ness, T.L. (2005) Chemokines: Central mediators of the innate responses to sepsis / T.L.Ness, C.M. Hogaboam, S.L. Kunkel // Current Immunology Reviews. 2005. Vol.1. P.237-260.
3. Lin, W.J., Yeh, W.C. (2005) Implication of Toll-like receptor and tumor necrosis factor alpha signaling in sepsis shock // Shock. 2005.- Vol.24. P.206-209.
4. Wen, H., Hogaboam, C.M., Gauldi, J., Kunkel, S.L. (2006) Severe sepsis exacerbates cell-mediated immunity in the lung due to an altered dendritic cell cytokine profile// Am J Pathol. 2006. Vol.168. P.1940-1950.
5. Аутоиммунные болезни и их роль в клинике внутренних болезней / Е.Ф.Чернушенко, Л.В.Когосова, Т.В. Голубка //– Киев: Здоровья, 1985. – 160 с.
6. [The evaluation of immunoinflammatory response in acute bacterial peritonitis] / C Siloși, F. Ghelase, I. Siloși, St. M. Ghelase, S. Rogoz, F. Cioară [et al.] (2020) Chirurgia (Bucur). 2010 Nov-Dec;105(6):789-96.
7. Dzubanovsky, I. Y., Pidruchna, S. R., Melnyk, N.A., Andreychyn, S.M. (2020) Dynamics of Cytokine Profile Indicators Changes in Animals with Acute Generalized Peritonitis on the Background of Diabetes Mellitus // Journal of Medicine and Life Vol. 13, Issue 3, July-September 2020, pp. 404–409.
8. Yu, Y.H. (2005) Change of TH1/TH2 cytokine equilibrium in rats with severe sepsis and therapeutic effect of recombinant interleukin-12 and Shenmai injection / Y.H. Yu, N.Q. Cui, G. Fu, J.Li // Chin. J. Integr. Med. – 2005. – Vol. 11, № 2. – P. 136-141.
9. Interleukin-1 β Protection Against Experimental Sepsis in Mice / H.-l. Guo, F.-d. Shi, Q. Zhou Q.-Y. Liu, Y.-X. Wang, Y. Song [et al.] // Inflammation, Vol. 44, No. 1, February 2021. – P.358- 370.
10. Hu F, Jiang J, Yu G, Zang H, Sun H. (2020) Propofol pretreatment prevents oxyglucose deprivation/reoxygenation (OGD/R)-induced inflammation through nuclear transcription factor κ B (NF- κ B) pathway in neuroblastoma cells. // Curr Neurovasc Res. Volume 17, Issue 1, 2020 P. 27 - 34.
11. Liu L., Xiao N., Chen P., Zhu X. (2023) IL-10 predicts the prognosis of patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure combined with spontaneous bacterial peritonitis // Front Med (Lausanne). 2023 Sep 26;10:1188300.

References:

1. Rasprostranennyj gnojnyj peritonit [Widespread purulent peritonitis] /V.V.Bojko, I.A.Krivoruchko, S.N. Teslenko A.V. Sivozhelezov; Monografiya. – Harkov: Prapor. 2008. – 280 s. [in Ukrainian].
2. Ness, T.L. (2005) Chemokines: Central mediators of the innate responses to sepsis / T.L.Ness, C.M. Hogaboam, S.L. Kunkel // Current Immunology Reviews. 2005. Vol.1. P.237-260.
3. Lin, W.J., Yeh, W.C. (2005) Implication of Toll-like receptor and tumor necrosis factor alpha signaling in sepsis shock // Shock. 2005.- Vol.24. P.206-209.
4. Wen, H., Hogaboam, C.M., Gauldi, J., Kunkel, S.L. (2006) Severe sepsis exacerbates cell-mediated immunity in the lung due to an altered dendritic cell cytokine profile// Am J Pathol. 2006. Vol.168. P.1940-1950.
5. Autoimmunnye bolezni i ih rol v klinike vnutrennih boleznej [Autoimmune diseases and their role in the clinic of internal medicine] / E.F.Chernushenko, L.V.Kogosova, T.V. Golubka //– Kiev: Zdorovya, 1985. – 160 s. [in Ukrainian].
6. [The evaluation of immunoinflammatory response in acute bacterial peritonitis] / C Siloși, F. Ghelase, I. Siloși, St. M. Ghelase, S. Rogoz, F. Cioară [et al.] (2020) Chirurgia (Bucur). 2010 Nov-Dec;105(6):789-96. [in Romanian]
7. Dzubanovsky, I. Y., Pidruchna, S. R., Melnyk, N.A., Andreychyn, S.M. (2020) Dynamics of Cytokine Profile Indicators Changes in Animals with Acute Generalized Peritonitis on the Background of Diabetes Mellitus // Journal of Medicine and Life Vol. 13, Issue 3, July-September 2020, pp. 404–409.
8. Yu, Y.H. (2005) Change of TH1/TH2 cytokine equilibrium in rats with severe sepsis and therapeutic effect of recombinant interleukin-12 and Shenmai injection / Y.H. Yu, N.Q. Cui, G. Fu, J.Li // Chin. J. Integr. Med. – 2005. – Vol. 11, № 2. – P. 136-141.
9. Interleukin-1 β Protection Against Experimental Sepsis in Mice / H.-l. Guo, F.-d. Shi, Q. Zhou Q.-Y. Liu, Y.-X. Wang, Y. Song [et al.] // Inflammation, Vol. 44, No. 1, February 2021. – P.358- 370.
10. Hu F, Jiang J, Yu G, Zang H, Sun H. (2020) Propofol pretreatment prevents oxygenglucose deprivation/reoxygenation (OGD/R)-induced inflammation through nuclear transcription factor κ B (NF- κ B) pathway in neuroblastoma cells. // Curr Neurovasc Res. Volume 17, Issue 1, 2020 P. 27 - 34.
11. Liu L., Xiao N., Chen P., Zhu X. (2023) IL-10 predicts the prognosis of patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure combined with spontaneous bacterial peritonitis // Front Med (Lausanne). 2023 Sep 26;10:1188300.