

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Е.И. Шишацкая
« _____ » _____ 2021г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

Особенности цитокиновой регуляции механической желтухи
желчнокаменного генеза.

Руководитель _____ профессор, д.м.н. _____ О.В. Смирнова _____

Выпускник _____ В.Е. Пооль _____

Красноярск, 2021

РЕФЕРАТ

Бакалаврская работа по теме «Особенности цитокиновой регуляции механической желтухи желчнокаменного генеза» состоит из 34-страничного текстового документа, рисунков 7, использованных 38 источников литературы.

ЦИТОКИНЫ; МЕХАНИЧЕСКАЯ ЖЕЛТУХА; ЖЕЛЧНОКАМЕННАЯ БОЛЕЗНЬ; ИМУННОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ.

Целью работы было изучить особенности цитокиновой регуляции при механической желтухе желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы до патогенетической терапии.

Проводилась оценка содержания уровней цитокинов и интерлейкинов в крови больных механической желтухой доброкачественного генеза и условно здоровых людей.

В ходе исследования было выявлено, что у больных механической желтухой доброкачественного генеза наблюдается увеличение содержания провоспалительных цитокинов, что говорит о запуске системы иммунитета по Th1 механизму до патогенетической терапии. Что касательно противовоспалительных цитокинов, то они имели показатели ниже референтных значений, что означает, что механизм по типу Th2 не запущен до патогенетической терапии.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Реферат	2
Введение.....	4
1 Обзор литературы.....	7
1.1 Характеристика синдрома механической желтухи	7
1.2 Способы диагностирования синдрома обтурационной желтухи.	13
1.3 Осложнения и способы лечения.....	15
1.4 Особенности цитокиновой регуляции при синдроме механической желтухи	17
2 Материал и методы исследования.....	20
2.1 Объект исследования.....	20
2.2 Статистические методы исследования	22
3 Результаты собственных исследований и их обсуждение.....	23
Заключение	30
Список сокращений	31
Список использованных источников	32

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире заболевания гепатопанкреодуоденальной зоны имеют высокую значимость в социуме и медицине, количество случаев диагностирования заболевания возрастает с каждым годом. Некоторые из таких заболеваний сопряжены с развитием блокады желчного протока и дальнейшим проявлением желтушной окраски кожи и склер. Как правило желтуха является симптомом заболевания, но если не устранить причину закупорки желчного протока сразу, то на исходе мы получим желтуху, как самостоятельную патологию. Причина в данном случае простая – изменения в органах вследствие холестаза. Кроме этого, стоит сказать, что по мнению ряда авторов, число заболеваний гепатопанкреодуоденальной зоны, которые вызывают блокаду желчных путей, продолжает увеличиваться [4,23,24].

Механическая желтуха – симптомокомплекс, который возникает на фоне обструкции желчевыводящих путей и невозможности оттока желчи в двенадцатиперстную кишку. Встречаемость данного синдрома среди патологий гепатопанкреодуоденальной области составляет от 12% до 45,2%. Если говорить о частоте встречаемости доброкачественного генеза данной патологии, то по статистике показатель колеблется от 4,8% до 22,5% [22]. К доброкачественному генезу можно отнести такие заболевания: стеноз большого дуоденального соска – встречаемость примерно 20-40%, холелитиаз – 35-42%, холедохолитиаза – 75-80%. Из года в год в России увеличивается количество случаев возникновения синдрома механической желтухи примерно на 800 тыс. чел. А если говорить о частоте случаев желчнокаменной болезни (ЖКБ) в России, то это примерно 5 обращений на 1000 населения [26,31,34]. Что касается злокачественного генеза, заболевания, следующие: опухоль головки поджелудочной железы, а также рак магистрального печёночного протока, рак среднего отдела магистрального желчного протока, рак желчного пузыря с прорастанием в гепатикохоледох[23,36].

В данной работе обратим внимание на синдром механической желтухи доброкачественного генеза. Чаще всего возникновение синдрома обусловлено наличием желчнокаменной болезни. При которой происходит нарушение гемодинамики из-за длительной закупорки желчевыводящих путей, что в дальнейшем приводит к развитию ишемии. Согласно современным представлениям, главную роль в ухудшении состояния пациента играет билирубин.

Результатом развития холемии и эндотоксикоза является нарушение иммунной реакции. При данном состоянии отмечаются выраженные изменения в иммунной системе, которые, вероятно ответственны за прогрессирование патологического процесса и развитие осложнений.

По некоторым данным, у пациентов с обтурационной желтухой наблюдались изменения концентрации иммуноглобулинов. Именно превышение уровней IgA и IgG [5]. Также в других источниках говорится о других иммуноглобулинах, а именно об иммуноглобулинах класса M и E. Нарушение гуморального механизма в иммунной системе организма отрицательно влияет на течение болезни.

Существуют данные о том, что значимый вклад в развитие патологии желчевыводящих путей вносят цитокины [14]. Как правило у пациентов синдромом обтурационной желтухи увеличена концентрация провоспалительных цитокинов и низок показатель противовоспалительных цитокинов. Также установлено, что имеются случаи превышения только показателя противовоспалительных цитокинов, что по мнению авторов можно связать с неблагоприятным исходом данной патологии [35].

Цель работы: изучить особенности цитокиновой регуляции при механической желтухе желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы до патогенетической терапии.

Задачи:

1. Определить содержание провоспалительных цитокинов (IL-2, TNF- α , INF- γ , IL-18) при МЖ желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы до патогенетической терапии.

2. Оценить уровень противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-10) при МЖ желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы до патогенетической терапии.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Характеристика синдрома механической желтухи

Желтуха – это клиническое состояние, при котором диагностируется повышенная концентрация билирубина в печени, крови и других тканях, а также пожелтение кожи, склеры и слизистых оболочек. Выявление патологии не является проблемой, поскольку клинические симптомы видны не только медперсоналу, но и людям в окружении пациента.

В литературе выделяется 3 типа желтухи. Принципиальное отличие состоит в том, что у надпеченочной желтухи существует избыточное поступление прямого билирубина, у печеночной проблема в функциональности гепатоцитов, а о механической будет рассказано далее.

Типы:

- надпеченочная желтуха,
- печеночная,
- подпеченочная (механическая, обтурационная) [10].

Механическая желтуха характеризуется полной или частичной закупоркой желчного протока, что в свою очередь сказывается на невозможности выхода желчи из печени через главный желчный проток в двенадцатиперстную кишку и в итоге увеличивает концентрацию билирубина в печени, других тканях и крови. Все это приводит к соответствующим проявлениям симптомов и поражению органов и тканей. Желтуха не является самостоятельным заболеванием, а чаще всего является осложнением, но если не предпринимать необходимые меры по нивелированию данного синдрома, то желтуха становится серьезной проблемой для пациента [6].

Стоит отметить главные моменты собственно приводящие к такому исходу, это – выход кишечной микрофлоры в сосудистое русло, угнетение гепатоцитов, нарушение циркуляции желчных кислот, интоксикация и приобретение иммунодефицита, в данном случае вторичного [17].

Рассматривая заболевания внепеченочных протоков, тактикой лечения которых является оперативный метод, можно сказать, что наиболее тяжело протекающими патологиями являются, те, которые в симптоматике характеризуются устойчивой непроходимостью желчных протоков с переходом в синдром подпеченочной желтухи, которая в свою очередь переходит в интоксикацию и завершающим этапом является полиорганная недостаточность. Осознание всей серьезности патологии вызывает необходимость быстрого принятия соответствующих мер, направленных на излечение и устранения данного состояния [1,8].

Как говорилось ранее, существуют два фактора развития синдрома обтурационной желтухи. Доброкачественный и злокачественный. Говоря о доброкачественном генезе, можно сказать, что у пациентов с синдромом подпеченочной желтухи в большинстве случаев этиологией является желчнокаменная болезнь. Это не единственный этиологический фактор, так же факторами могут служить доброкачественные новообразования печени, Фалерова сосочка и др [36].

Так же не стоит оставлять без внимания тот факт, что не смотря на прогресс современной медицины сохраняется высоким уровень осложнений, а послеоперационная летальность в группе больных пожилого и старческого возраста составляет 15-25% [36]. Обтурационная желтуха в только в 30% случаев развивается не как следствие желчнокаменной болезни, а проблемой является злокачественные новообразования. Если сравнивать мужчин и женщин, то у женщин встречаемость патологии в 2 раза чаще, чем у мужчин. [11,23]. Если рассматривать ситуацию в целом, холелитиаз остается ведущим заболеванием желчного пузыря и протоков, так как около 10-15% развитых стран страдают желчнокаменной болезнью, а количество случаев заболевания удваивается каждые 10 лет [9,10,26].

Для диагностирования механизма заболевания, а также определения тактики лечения в медицине используют различные классификации синдрома обструктивной желтухи. В современной научной литературе

достаточно часто встречается классификация профессора Гальперина и классификация по этиологии.

Этиологическая классификация:

1. Пороки развития:

- атрезии желчевыводящих путей;
- гипоплазия желчных ходов;
- кисты холедоха;
- дивертикулы 12-перстной кишки, расположенные вблизи БДС.

2. Доброкачественные заболевания желчных путей:

- желчнокаменная болезнь, осложненная холангиолитиазом;
- вколоченные камни БДС;
- стриктуры желчных протоков;
- стеноз БДС.

3. Воспалительные заболевания:

- острый холецистит с перипроцессом;
- холангит;
- панкреатит (острый или хронический индуративный);
- киста головки поджелудочной железы со сдавлением холедоха;
- острый папиллит.

4. Опухоли:

- рак печеночных и общего желчного протоков;
- рак БДС;
- рак головки поджелудочной железы;
- метастазы и лимфомы в воротах печени;
- папилломатоз желчных ходов.

5. Паразитарные заболевания печени и желчных протоков.

- эхинококкоз или альвеококкоз в области ворот печени [23].

Классификация тяжести механической желтухи проф. Гальперин:

Выбранным признакам присвоены балльные оценки:

1. Общий билирубин сыворотки крови (мкмоль/л):

- <60 – 1 балл,
- 60–200 – 2 балла,
- >200 – 3 балла.

2. Каждое осложнение механической желтухи и “опухолевый фактор” оцениваются в 2 раза выше балла билирубина и зависят от уровня билирубинемии, т.е. билирубин 1 балл – осложнение 2 балла, билирубин 2 балла – осложнение 4 балла и билирубин 3 балла – осложнение 6 баллов.

Определены классы тяжести механической желтухи (А, В, С) путем сочетания балльных оценок выявленных признаков:

- класс А – ≤ 5 баллов,
- класс В – 6–12 баллов,
- класс С – ≥ 16 баллов.

Классификация позволяет определить прогноз предстоящей операции и лечебные действия, зависящие от тяжести механической желтухи [26,28].

Если мы говорим об этиологии, то стоит понимать, что часто встречаемая патология, которая затем осложнилась механической желтухой – это желчнокаменная болезнь, до 80% встречаемости. Кроме данного этиологического фактора, рассматриваются такие как: новообразования протоков, большого дуоденального сосочка, поджелудочной железы и желчного пузыря (до 40%) могут препятствовать секреции желчи [22,34].

Нельзя не сказать о важности времени постановки диагноза. Поскольку длительная блокада желчевыводящих путей имеет исход в ишемию и

приводит к нарушению гемодинамики. Ряд авторов считают, что эндотоксикоз имеет большее отрицательное влияние на организм в патогенезе синдрома механической желтухи. Как правило, первый токсин, воздействующий на организм – билирубин. Но это не единственный агент при данной патологии. Существует ряд токсических веществ, которые затрудняют диагностику эндотоксикоза и отдалают назначение соответствующей терапии. С течением заболевания снижается функция гепатоцитов что приводит к угнетению процесса захвата билирубина и по итогу в крови идет избыточное накопление непрямого билирубина [6,32].

Локализация непроходимости основного желчного протока приводит к затруднению оттока желчи в двенадцатиперстную кишку. В конечном итоге обструкция приводит к билиарной гипертензии в месте обструкции. Затем, протоки увеличиваются в диаметре и желчь, которая находится при избыточном давлении, выделяет в кровь билирубин, желчные кислоты и другие составляющие желчи. Обратим внимание на место обструкции, к которому направляются нейтрофилы и моноциты, начиная воспалительный процесс с возможностью перехода в генерализованный. Стоит отметить, что билирубин частично остается в желчных протоках, затем абсорбируется гепатоцитами, а затем присоединяет остаток глюкуроновой кислоты, непосредственно образуя билирубин. В результате билирубин (билирубин-глюкуронид) попадает непосредственно в кровоток, и симптомом гипербилирубинемии является моча темно-желтого цвета, т.к. почки стараются компенсировать избыток билирубина в крови и вывести его через мочу. Также избыток билирубина проявляется в цвете стула, он становится серым, так как желчные пигменты не выделяются в просвет двенадцатиперстной кишки. В свою очередь недостаток желчи в двенадцатиперстной кишке снижает эффективность всасывания тех витаминов, которые растворяются в жирной среде, а именно А, Д и К. Говоря о витамине К, стоит сказать, что недостаток данного вещества вызывает нарушения протромбинообразовательной функции в печени и как следствие

повышение кровоточивости. Данный аспект может вызывать трудности при оперативной терапии, поскольку другой терапии данная патология не рассматривает [23,25]. По некоторым данным существует взаимосвязь между кожным зудом, который является достаточно не редким симптомом, и холемией при синдроме обтурационной желтухи. Если у пациента наблюдается длительно сохраняющаяся обструкция с застоем желчи, то в таком случае увеличивается вероятность такого процесса, как холангит, который представляет серьезную угрозу для больного. Длительное существование желчи в крови приводит к интоксикации организма в целом. Из всех осложнений, которые могут наблюдаться при обтурационной желтухе, наиболее серьезным является нарушение функциональной способности гепатоцитов с развитием некротических процессов и последующим развитием билиарного цирроза печени и печеночно-клеточной недостаточности. Если говорить о злокачественном генезе, то помимо всего вышеперечисленного в патогенез синдрома подпеченочной желтухи включается также опухолевый фактор [17].

Обтурационная желтуха провоцирует развитие таких тяжелых осложнений, как: абсцесс печени, острый холангит, абдоминальный сепсис. Происходит это из-за того, что осуществляется транслокация патогенной микрофлоры из кишечника на фоне желчной гипертензии. Все это способствует развитию системного воспалительного ответа [12].

Синдром механической желтухи включает в себя следующие синдромы:

- синдром ахолии и холестаза
- воспалительный синдром
- болевой синдром
- синдром печеночно-клеточной недостаточности [7].

1.2 Способы диагностирования синдрома обтурационной желтухи

К клинико-диагностическим признакам заболевания относятся:

- Зеленый оттенок кожи(желто-серый).
- Приступы болей в эпигастральной области и в подреберье справа.
- Устойчивый кожный зуд.
- Боли в районе печени.
- Печень увеличена.
- Селезенка обычно не увеличена.
- Цвет мочи темный.
- Уробилин отсутствует в моче при полной обструкции.
- Цвет кала бледный, в следствии отсутствия стеркобилина.

При исследовании анализов в лаборатории выявляется повышенный непрямой билирубин и повышенная щелочная фосфатаза. Так же имеется положительный результат тимоловой пробы. Так же стоит сказать, что при диагностике синдрома механической желтухи проводятся такие инструментальные исследования, как УЗИ, лапароскопия, гепатография, биопсия печени, определение скрытой крови в кале, чрезкожная внутripеченочная холангиография, диастаза крови и мочи, амилазы [5,22].

Для пациентов, которым был установлен диагноз синдрома механической желтухи, показано обязательное оперативное вмешательство.

Существуют определенные риски такого лечения. Послеоперационный период может быть сопряжен с ухудшением состояния больного, а именно проявлением осложнений. Как правило такие осложнения протекают не по одному варианту механизма, а по совокупности, что усложняет лечение

пациента и способствует неблагоприятному прогнозу в виде полиорганной недостаточности.

К таким осложнениям относятся:

- Печеночная дисфункция.
- Почечная дисфункция.
- Всплеск в крови продуктов окислительного стресса [14].
- Развитие инфекций и как следствие нарушение иммунного ответа.
- Холангит.
- Сепсис.
- Желудочно-кишечные кровотечения [7,12].

Стоит заметить, что успех терапии для патологий, которые в своей симптоматике имели проявление синдрома обтурационной желтухи зависит в первую очередь от того, как быстро установится характер патологии и также тяжесть и этиология блокады желчного протока. Ошибки возможны в достаточно большом диапазоне – от 10% до 42% случаев. Стоит сказать и о положительных моментах. На данном этапе осуществляется развитие методов диагностики в лучшую сторону, благодаря усовершенствованию ранее известных методов и открытию новых, а также применению современных малоинвазивных технологий, а именно: эндовидеохирургических, ультразвуковых, рентгенотелевизионных и др. Кроме того не обходится без совокупности методов. При выборе последнего стоит учитывать конечную цель исследования, какой результат необходим и подходит ли данная технология больному, есть ли у него противопоказания для того или иного метода [22,36].

1.3 Осложнения и способы лечения

Если говорить об осложнениях, то они не только различны по патогенезу, но и могут развиваться не сразу. Например, если у пациента печеночно-клеточная недостаточность, то в дальнейшем она может привести к полиорганной недостаточности и смертельному исходу.

Говоря о печеночно-клеточной недостаточности, стоит обратить внимание на то, что данное осложнение является наиболее часто проявляемым. Причем для данного осложнения характерны такие признаки, как энцефалопатия и биохимические показатели, которые относятся к гомеостазу печени [3]. Несмотря на то, что это наиболее частое осложнение, не стоит забывать о таких механизмах, как ахолия и холемия. Ахолия характеризуется тем, что идет недостаточное поступление желчи в ДПК и естественно уровень эндотоксикоза возрастает, что по итогу приводит к повышению концентрации провоспалительных цитокинов, что окажет отрицательное влияние на функцию клеток Купфера [19]. Второй процесс — это холемия, который проявляется в том, что желчь и билирубин поступают в кровь. Характеризуется снижением скорости почечного кровотока, расширению просвета сосудов, адгезии и т.д. Наличие желчи в крови так же воздействует на систему иммунитета, а именно повышение уровней провоспалительных (TNF- α , IL-6, IL-8 и др.) [35]. Подводя небольшой итог выше написанному, можно сказать, что, проводя оперативное лечение стоит понимать, что высок риск инфицирования магистральных протоков, поскольку иммунная система не вполне адекватно оценивает ситуацию, происходящую в организме. Организм находится в дисбалансе, и нагрузка в виде хирургической терапии не является облегчающим элементом, а только ухудшает течение синдрома механической желтухи. И это является своеобразным вторым ударом, помимо, итак, протекающей патологии. Итогом такого вмешательства может быть летальный исход еще задолго до получения положительного результата от терапии [27].

Хирургическое вмешательство, зависит прежде всего от места локализации и причины обструкции. Основными видами оперативной терапии считаются:

- Наружное дренирование желчных протоков – снижение интоксикации организма и восстановление нормального оттока желчи.
- Эндоскопическая папиллосфинктеротомия – процедура по удалению конкрементов из желчного пузыря.
- Эндоскопическая холецистэктомия – осуществляется удаление желчного пузыря через небольшие эндоскопические отверстия в брюшной стенке.
- Холедохолитотомия – оперативное вмешательство с целью удаления конкрементов из магистральных желчных протоков и удаление желчного пузыря.
- Частичная гепатэктомия – иссечение отдельных участков печени, пораженных в результате патологического процесса [10,21,22].

Подводя итог всего вышеизложенного, можно сказать, что проблема синдрома механической желтухи так и не остается разрешенной несмотря на то, что существует не один оперативный метод для разрешения данной патологии и все равно на деле мы имеем высокую встречаемость осложнений. Кроме этого, стоит сказать о том, что уровень встречаемости патологии продолжает оставаться высоким и по некоторым данным данный показатель будет только расти [9].

1.4 Особенности цитокиновой регуляции при синдроме механической желтухи

Цитокины — медиаторы системы иммунитета, наиболее многочисленная и универсальная по своим функциональным способностям группа, относится как к врожденному, так и к приобретенному иммунитету и вносит равный вклад в их существование. Если мы говорим о цитокинах, то понимаем что они участвуют не только в системе иммунитета, но также играют важную роль в тканевом гомеостазе, кроветворении и других процессах.

Цитокины в большинстве короткодействующие медиаторы, которые помогают в межклеточном взаимодействии клеток в локальной среде. Если цитокин все-таки достигает клетки-мишени во время циркуляции с кровью, то проявляются межсистемные эффекты данных медиаторов. В действии цитокинов присутствует каскадность, другими словами, один цитокин может запустить выработку других цитокинов одной клеткой или же этого же цитокина. Данный процесс приводит к усилению биологических эффектов [37,38].

Существует достаточное количество классификаций цитокинов, но в данной работе используем классификацию по биологическим эффектам от Симбирцева А.С.:

1.Интерлейкины (IL -1- IL -35) – обеспечивают внутриклеточные взаимодействия и связь между различными системами организма и иммунной системой. Регулируют действия клеток иммунной системы.

2.Факторы некроза опухоли – стимулируют воспаление, повреждает клетки. Один из основных провоспалительных цитокинов [13].

3. Интерфероны – оказывают противовирусное и антипролиферативное действие. Выделяют интерфероны I типа (INF α , - β , - δ , - κ , - ω , - τ) оказывающие противовирусное и противоопухолевое действие, интерфероны II типа (INF γ) регулируют специфичный иммунный ответ.

4. Факторы роста гемопоэтических клеток – представляют собой, как правило гликопротеины, которые секретируются т-клетками. Включают в себя эритропоэтин (в основном секретируется почками), тромбопоэтин и т.д. Активируют гемопоэз.

5. Хемокины (СС, СХС (IL 8), СХЗС), отвечают за регуляцию хемотаксиса лейкоцитов.

6. Факторы роста – медиаторы, участвующие в распределении и функциональных свойствах различных тканей (например, фактор роста эндотелия) [33].

По мнению ряда авторов, при синдроме механической желтухи наблюдается дисбаланс в системе иммунитета, а именно активация гуморального и подавление клеточного звена иммунитета. В литературе сказано, что если превышает уровень цитокинов, значит клеток продуцентов становится больше и как следствие это является реакцией системы иммунитета на какое-либо воспаление в организме. [37,38].

Рассматривая патологии желчевыводящих путей, можно сказать, что наибольший вклад в развитие и течение заболеваний вносят цитокины и интерлейкины. Основные цитокины, которые стоят за стимуляцией системного ответа в острой фазе воспаления, являются - IL-18, IL-2, TNF- α и INF- γ [2].

TNF α является продуктом моноцитов / макрофагов, эндотелия, тучных и миелоидных клеток, глиальных клеток и в некоторых случаях активированных Т-лимфоцитов [33]. TNF имеет три или более механизмов действия: цитотоксичность (нацеливание на опухолевые или пораженные вирусом клетки), иммуномодулирующее и противовоспалительное, вызванное активацией макрофагов, нейтрофилов и других клеток. У пациентов с механической желтухой доброкачественного происхождения наблюдалось достоверное повышение уровня цитокинов TNF- α , способствующее развитию воспалительных и инфекционных процессов [19].

TNF- α является неоднозначным функциональным агентом, поскольку это медаль о двух сторонах. Одна грань может активировать гепатоциты в процессе восстановления печени, а другая грань стимулирует развитие печеночной дисфункции [19,20,36].

IL-10 относится к группе противовоспалительных цитокинов, поскольку оказывает иммуносупрессивное действие на синтез провоспалительных цитокинов, продуцентом данного цитокина являются Th2. Данный цитокин является ключевым регулятором иммунного ответа. У больных подпеченочной желтухой не злокачественного генеза наблюдалось понижение концентрации данного цитокина в сравнении с контрольной группой.

IL-4 также относится к противовоспалительным цитокинам, оказывать действие на макрофаги и те в свою очередь снижают синтез провоспалительных цитокинов, например, таких как IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α . Кроме этой функции, является фактором для дифференцировки Т-клеток и В-клеток. В тандеме с интерфероном гамма поддерживает баланс между линиями Th1 и Th2 [15,18,33].

В ходе данной работы было выяснено, что уровень IL-18 у больных подпеченочной желтухой не злокачественного генеза достоверно повысился у 73% исследуемых. В функции данного цитокина входит запуск воспалительного ответа, в составе каскада повышая уровни провоспалительных цитокинов, таких как, например TNF- α , INF- γ .

Также у всех больных МЖ доброкачественного генеза резко повышена концентрация IL-2 по отношению к контрольной группе. IL-2 синтезируется Т-хелперами именно первого типа, и повышение или понижение концентрации данного цитокина прямо коррелирует с количеством Th2. Данный цитокин не последний в организме по значимости, т.к. он активирует систему иммунитета и является координатором основных процессов. Превышение концентрации данного цитокина, говорит о том, что

идет прогрессирование воспалительных и инфекционных процессов при синдроме механической желтухи доброкачественного генеза [5,18,19].

2 Материал и методы исследования

2.1 Объект исследования

Общее количество больных с синдромом обтурационной желтухи доброкачественного генеза принявших участие в исследовании – 87 человек в возрасте от 30 до 59 лет (средний возраст $44,02 \pm 14,88$ лет). Развитию данной патологии предшествовало наличие холелитиаза. Подгруппы были сформированы в зависимости от уровня желчного пигмента - билирубина в крови пациентов (табл. 1, рис.1).

Исследование проводилось в рамках этических норм и допуска этического комитета ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН «НИИ медицинских проблем Севера», каждому участнику исследования был выдана форма добровольного информированного согласия. Исследуемым материалом была венозная кровь, которую брали у пациентов из локтевой вены утром натощак с 8 до 9 утра до терапии в вакуумные пробирки с литий гепарином.

Таблица 1 - Распределение пациентов с механической желтухой в зависимости от уровня билирубина.

	Количество пациентов	
	Абс. число	%
Больные МЖ с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л	21	24,1
Больные МЖ с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л	42	48,3
Больные МЖ с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л	24	27,6
Итого	87	100

Группу сравнения (контрольную) составили 125 практически здоровых добровольцев сопоставимых по возрасту (средний возраст $42 \pm 13,03$ года) (рис. 1) и полу людей, отобранных при профилактических осмотрах в Красноярских ЛПУ. Исследование больных и практически здоровых лиц проводилось с разрешения Этического комитета НИИ медицинских проблем Севера.

Уровни интерлейкинов 2, 18; фактора некроза опухоли альфа; интерферона гамма и интерлейкинов 4, 10 в плазме крови больных и здоровых лиц определяли ИФА с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).



Рисунок 1 – Группы больных механической желтухой желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина и практически здоровые добровольцы (контрольная группа).

2.2 Статистические методы исследования

По результатам исследования была создана база данных на персональном компьютере в пакете электронных таблиц MS Excel 2010. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных пакетов Statistica Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и Microsoft Excel, 2007 (Microsoft, США).

Обработка полученных данных включала расчет параметрических показателей для определения медианы (Me) и интерквартильного диапазона (C25-C75). Доказательство коэффициента ошибки для отклонения нулевой гипотезы Колмогорова Смирнова соответствует уровню значимости 0,95

(95%) и определялось с помощью рангового критерия Манна-Уитни. При проверке статистических гипотез критический уровень статистической значимости считался равным ($p < 0,05$).

3 Результаты и обсуждение

У пациентов с механической желтухой холецистогенеза показано, что независимо от уровня билирубина в крови показатель значения уровня IL-2 (рис.2) превышен в каждой из групп в сравнении с контрольной группой (КГ). Кроме этого, у больных с гипербилирубинемией 60-200 мкмоль/л увеличивается содержание IL-2 в сравнении с больными гипербилирубинемия которых менее 60 мкмоль/л. Так же у больных с гипербилирубинемией более 200 мкмоль/л снижен уровень IL-2 в сравнении с больными, у которых гипербилирубинемия 60-200 мкмоль/л.

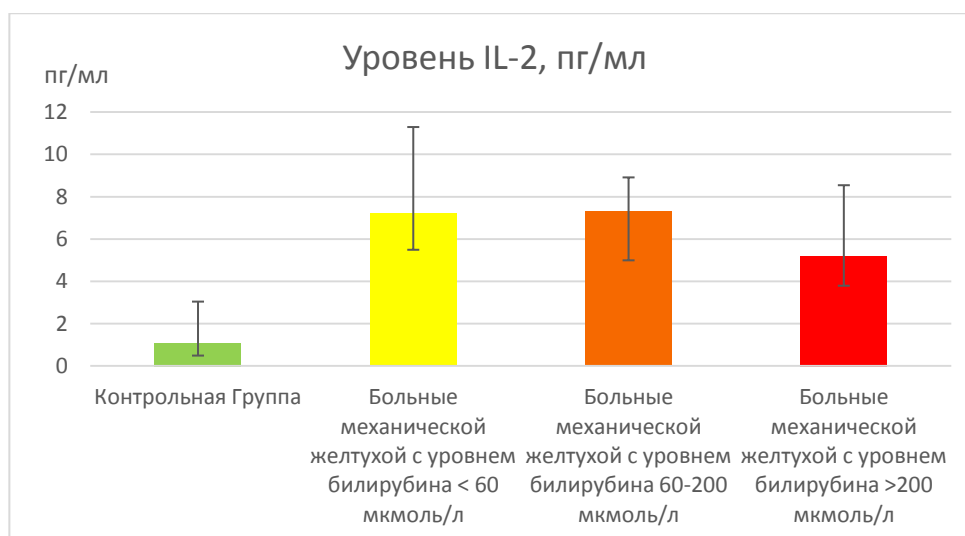


Рисунок 2 – Содержание уровня IL-2(пг/мл) в плазме крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы.

Уровень фактора некроза опухоли альфа(рис.3) у всех заболевших превышен в сравнении с КГ не зависимо от уровня билирубинемии. Наибольшее превышение наблюдается у больных с гипербилирубинемией более 200 мкмоль/л, самое меньшее у больных гипербилирубинемией 60-200 мкмоль/л.

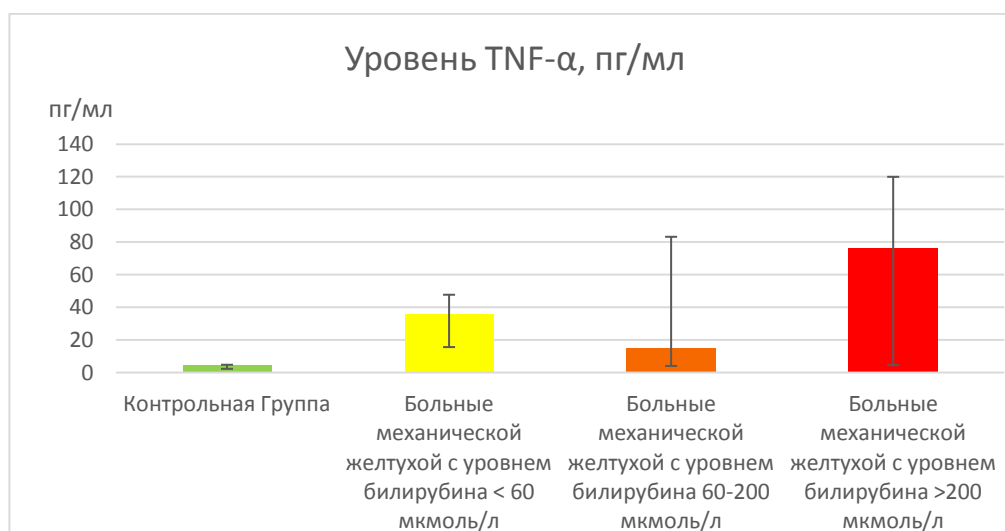


Рисунок 3 – Содержание уровня TNF- α (пг/мл) в плазме крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы.

Уровень INF- γ (рис.4) превышен у всех групп больных вне зависимости от гипербилирубинемии, кроме этого, у больных с гипербилирубинемией более 200 мкмоль/л наблюдается наибольший уровень интерферона в сравнении с другими группами заболевших, а наименьший у больных с гипербилирубинемией 60-200 мкмоль/л.

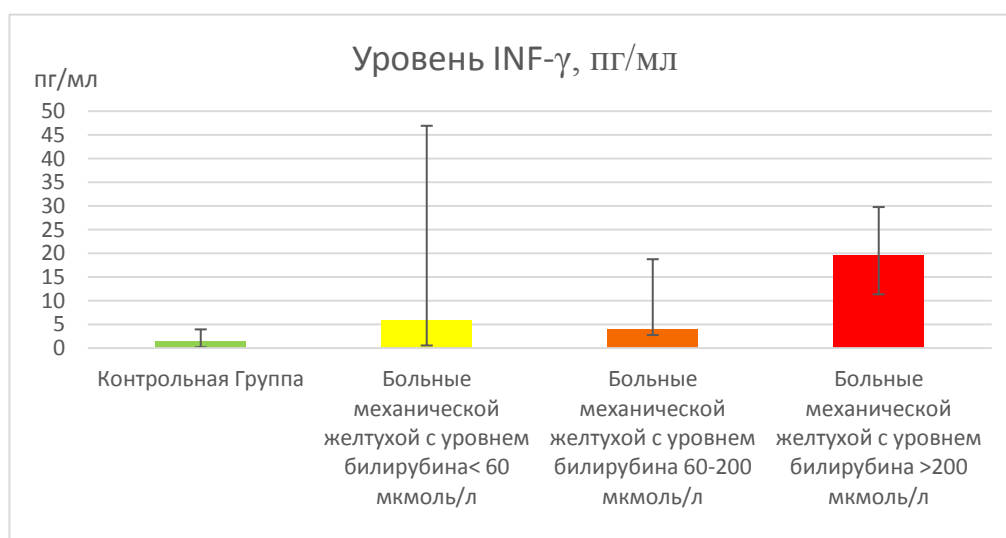


Рисунок 4 – Содержание уровня INF- γ (пг/мл) в плазме крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы.

Перейдем к уровням IL-18 (рис.5). Анализируя диаграмму, видно, что уровень IL-18 превышен у каждой из групп заболевших, вне зависимости от ур. билирубина в сравнении с КГ. Так же у больных с ур. билирубина 60-200 мкмоль/л показатель понижен в сравнении с больными ур. билирубина которых менее 60 мкмоль/л. У больных с ур. билирубина более 200 мкмоль/л уровень IL-18 повышен в сравнении с больными ур. билирубина которых 60-200 мкмоль/л.

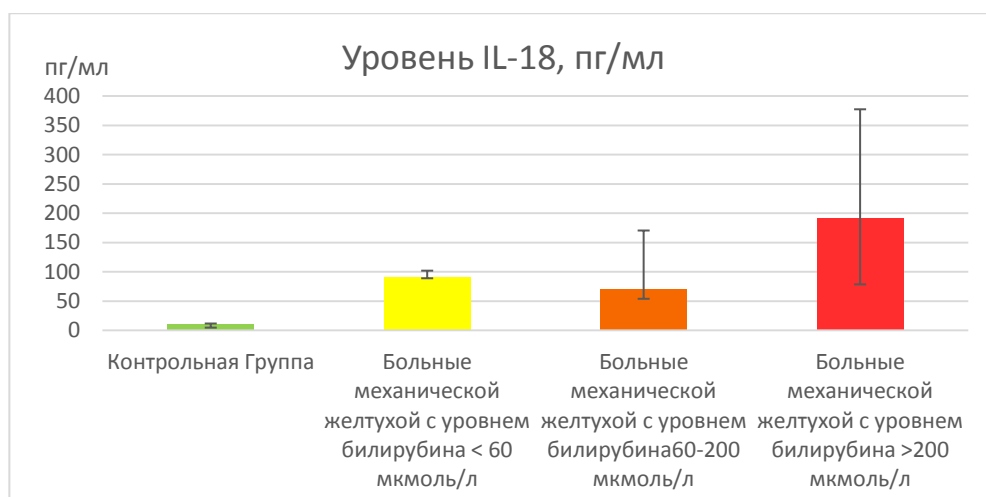


Рисунок 5 – Содержание уровня IL-18(пг/мл) в плазме крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной групп.

Рассматривая уровни IL-4(рис.6), можно сказать о том, что у больных с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л и более 200 мкмоль/л показатель понижен в сравнении с КГ, а у больных с ур. менее 60 мкмоль/л IL-4 самый низкий по отношению к двум другим группам заболевших. У больных с ур. билирубина 60-200 мкмоль/л уровень IL-4 был выше, чем у больных с ур. билирубина менее 60 мкмоль/л, а у больных с ур. билирубина более 200 мкмоль/л содержание IL-4 было выше, чем у больных с ур. билирубина 60-200 мкмоль/л.

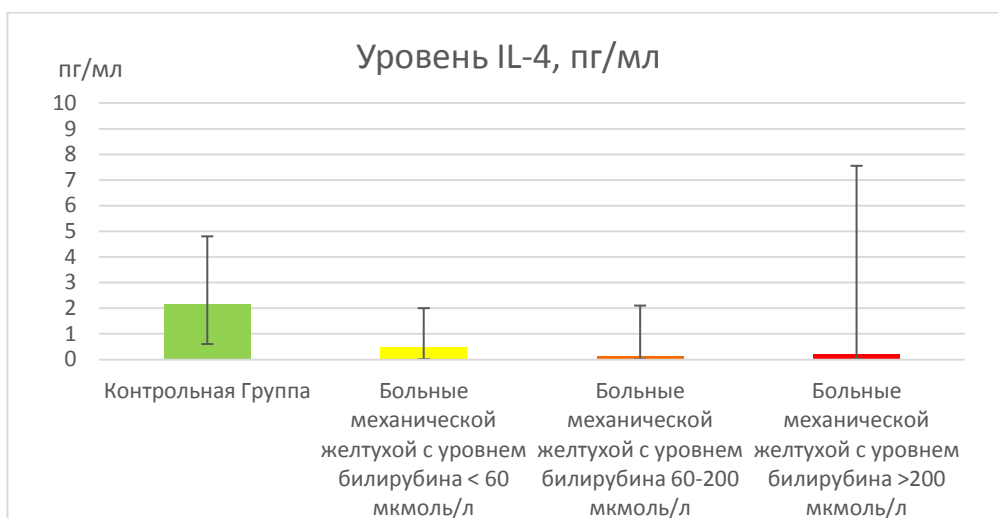


Рисунок 6 – Содержание уровня IL-4(пг/мл) в плазме крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы.

Говоря об уровнях IL-10 (рис.7) в группах больных, можно сказать, что он снижен у всех больных в сравнении с КГ. Кроме этого, у больных с ур. билирубина 60-200 мкмоль/л уровень IL-10 выше, чем у больных с ур. билирубина менее 60 мкмоль/л, а у больных с ур. билирубина более 200 мкмоль/л показатель больше, чем у больных с ур. 60-200 мкмоль/л.



Рисунок 7 – Содержание уровня IL-10(пг/мл) в плазме крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина относительно контрольной группы.

Таблица 2 – Уровень цитокинов в крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контрольная группа, N=125(1)		Больные МЖ с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л, N=20 (2)		Больные МЖ с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л, N=41 (3)		Больные МЖ с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л, N=23 (4)	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅

IL-2, пг/мл	1,1	0,5-3,05	7,2	5,5-11,3	7,3	5-8,92	5,2	3,8-8,55
			p₁₋₂=0.05*10⁻¹⁰		p₁₋₃=0.04*10⁻¹⁴ p₂₋₃=0.0001		p₁₋₄=0.01*10⁻⁷ p₃₋₄=0.00008	
TNF-α, пг/мл	0,54	0,38-0,88	35,7	15,7-47,8	14,6	4,15-83,3	76,3	4,65-120,05
			p₁₋₂=0.04*10⁻¹⁰		p₁₋₃=0.02		p₁₋₄=0.04	
INF - γ, пг/мл	0,6	0,22-4,0	6	0,6-70,95	4,1	2,8-18,8	19,7	11,4-29,8
			p₁₋₂=0.0002		p₁₋₃=0.000006 p₂₋₃=0.0001		p₁₋₄=0.02, p₂₋₄=0.0001, p₃₋₄=0.0001	
IL-18, пг/мг	1,6	0,1-2,1	90,7	89,3-102,3	70,6	54,3-170,8	191,3	78,9-377,6
			p₁₋₂=0.000003		p₁₋₃=0.00003 p₂₋₃=0.002		p₁₋₄=0.00002 p₃₋₄=0.006	
IL-4, пг/мг	2,15	0,6-4,8	0,05	0,01-2	0,01	0,01-2,1	0,2	0,01-14,55
			p₁₋₂=0.002		p₁₋₃=0.04*10⁻¹⁰ p₂₋₃=0.0002		p₁₋₄=0.001 p₃₋₄=0.0003	
IL-10, пг/мг	14,8	8,65-26,85	1,1	0,75-1,6	2,3	0,82-3,6	4,35	3,075-8,2
			p₁₋₂=0.003		p₁₋₃=0.001 p₂₋₃=0.0004		p₁₋₄=0.002 p₃₋₄=0.000006	

Примечание: – достоверные различия между контрольной группой и группой больных МЖ доброкачественного генеза с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л.

– достоверные различия между контрольной группой и группой больных МЖ злокачественного генеза с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л.

– достоверные различия между контрольной группой и группой больных МЖ злокачественного генеза с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л.

– достоверные различия между группами больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л и более 200 мкмоль/л.

– достоверные различия между группами больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л и более 200 мкмоль/л

– достоверные различия между группами больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л и более 200 мкмоль/л

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У больных механической желтухой доброкачественного генеза отмечается повышение уровня провоспалительных цитокинов (IL-2, TNF- α , INF- γ , IL-18), что свидетельствует об активации иммунитета по Th1-механизму до начала патогенетической терапии.
2. У больных механической желтухой доброкачественного генеза отмечается снижение уровня противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), что говорит о том, что Th2 механизм не задействован до начала патогенетической терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

МЖ – механическая желтуха

КГ – контрольная группа

ЖКБ – желчнокаменная болезнь

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Beckingham, Ian J Gallstones/ I. Beckingham // *Medicine (United Kingdom)* – 2019. – № 47(12). – P. 846-849.
2. Bignold, R. Effects of cytokine signaling inhibition on inflammation-driven tissue remodeling / R. Bignold, J. Johnson // *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery* – 2021. – № 2 – P. 23.
3. Darshan, G. A pictorial review of gall stones and its associated complications/ Gandhi Darshan, Ojili Vijayanadh, [et al.] // *Clinical Imaging* – 2020. - № 60(2) – P. 228-336.
4. Gomi, H. Updated comprehensive epidemiology, microbiology, and outcomes among patients with acute cholangitis/ Gomi H., Takada T., Hwang T.L. [et al.] // *Hepatobiliary Pancreat Sci.* – 2017. – № 24.– P. 310–318.
5. Jones, MW Gallstones (Cholelithiasis)/ Jones MW, Weir CB, Ghassemzadeh S. // *StatPearls Publishing* – 2021. – PMID: 29083691.
6. Joseph, A Jaundice/ A. Joseph, H. Samant // *StatPearls Publishing* – 2021.
7. Liu, Jiayue The pathogenesis of renal injury in obstructive jaundice: A review of underlying mechanisms, inducible agents and therapeutic strategies / Liu, Jiayue Qu, Jialin, Chen Haiyang [et al.] // *Pharmacological Research.* – 2021. - Vol. 163. – P. 311.
8. Loozen, C.S. Randomized clinical trial of extended versus single-dose perioperative antibiotic prophylaxis for acute calculous cholecystitis/ Loozen C.S. // *Br J Surg.* – 2017. – № 104. – P. 151–157.
9. Mayumi, T. Tokyo Guidelines 2018: Management bundles for acute cholangitis and cholecystitis/ T. Mayumi [et al.] // *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* – 2018. – № 25.– P. 96–100.
10. Mazuski, J.E. The Surgical Infection Society Revised Guidelines on the Management of Intra-Abdominal Infection/ J.E. Mazuski [et al.] // *Surgical infections.* – 2017. – №18. – P. 1–76.

11. Melnick, S. Duodenal diverticulum: incidental finding with potentially dangerous outcomes/ S. Melnick [et al.] // Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives. – 2017. – № 7. –P.56-57.
12. Pavlidis, Efstathios T. Pathophysiological consequences of obstructive jaundice and perioperative management / Pavlidis, Efstathios T., Pavlidis, Theodoros E. // Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International. – 2018. – Vol. 17, № 1. – P. 17-21.
13. Ravindran, R. Jaundice/ R. Ravindran // Surgery (United Kingdom). – 2020. – № 38(8). – P. 446-452.
14. Tanaja, J Cholelithiasis/ Tanaja J, Lopez RA, Meer J // Stat Pearls Publishing. – 2021.
15. Williams, E. Updated guideline on the management of common bile duct stones (CBDS)/ E. Williams, [et al.]. // Gut. – 2017. – Vol. 5, № 66. –P.765-782.
16. Yokoe, M. Tokyo Guidelines 2018: diagnostic criteria and severity grading of acute cholecystitis (with videos)/ Yokoe M., Hata J., Takada T., [et al.] // J Hepatobiliary Pancreat Sci. – 2018. – № 25. – P. 41–54.
17. Базина, К.А. Патогенез механической желтухи обзор литературы/ К. А. Базина[и др.] // Colloquium-journal. – 2020. – № 10-3(62). – С. 40-48.
18. Винник, Ю.С. Взаимосвязь интегральных гематологических показателей, клеточного и гуморального иммунитета со степенью тяжести механической желтухи/ Винник Ю. С. [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017. – Т. 12, № 4. – С. 387-390.
19. Гальперин, Э.И. Дифференцированный подход к применению минимально инвазивных методов лечения опухолевой механической желтухи. / Гальперин Э.И. [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 2019. – №24(2). – С. 10-24.
20. Кошевский, П.П. Инфекционные осложнения у пациентов с механической желтухой неопухолевой генеза/ Кошевский П.П. [и др.] // Медицинский журнал. – 2017. – №2 (60). – С. 84-86.

21. Кукош, М.В. Этапное лечение механической желтухи вызванной желчнокаменной болезнью/ Кукош М.В. [и др.] // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2018. – №2. – С. 26-31.
22. Михайличенко, В.Ю., Современные аспекты хирургического лечения синдрома механической желтухи/ Михайличенко В.Ю. [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 3.
23. Михайлова, Д.А. Механическая (обтурационная) желтуха. Клинический случай/ Modern Science. – 2020. – № 3-1. – С. 299-301.
24. Назирбоев, К.Р. Пути улучшения результатов хирургического лечения механической желтухи доброкачественного генеза/ К. Р. Назирбоев, К. М. Курбонов // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2017. – Т. 12. – № 4-2. – С. 52-55.
25. Никитин, И.Г. Желчнокаменная болезнь: эпидемиологические данные, ключевые аспекты патогенеза и коморбидности, актуальные терапевтические мишени/ Никитин И.Г., Волнухин А.В. // Медицинское обозрение. – 2020. - №4(5) – С. 290-296.
26. Пахомова, Р.А. Клинические проявления механической желтухи и печеночной недостаточности в зависимости от степени тяжести механической желтухи доброкачественного генеза/ Р. А. Пахомова, Л. В. Кочетова // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 6. – С. 47.
27. Подолужный, В.И. Механическая желтуха: принципы диагностики и современного хирургического лечения/ Подолужный В.И. // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2018. – №2. – С. 82-92.
28. Потоцкий, М. И. Прогнозирование послеоперационных осложнений у пациентов с механической желтухой/ М. И. Потоцкий // Известия Российской Военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 1. – С. 233-239.
29. Праздников, Е.Н. Возможности антеградного доступа в лечении холангиолитиаза, осложненного синдромом механической желтухи/


- Праздников Е.Н. [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2018. – №1. – С. 21-25.
30. Стяжкина, С.Н. Аспекты динамики и лечения механической желтухи/ Стяжкина С.Н. [и др.] // Наука и образование сегодня. – 2017. – № 3 (14). – С. 46-49.
31. Стяжкина, С.Н. Летальный исход желчнокаменной болезни, осложненный холангиогенным сепсисом / С. Н. Стяжкина, Г. Н. Гумерова, А. И. Нуриева, А. М. Шайхутдинова // Modern Science. – 2020. – № 5-1. – С. 246-250.
32. Стяжкина, С.Н. Механическая желтуха основное осложнение гепатопанкреатобилиарной системы/ Стяжкина С.Н. [и др.] // Вестник науки и обр. – 2017. – №5 (29). – С. 103-105.
33. Сташкевич, Д.С. Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения/ Д.С. Сташкевич, Ю.Ю. Филиппова, А.Л. Бурмистрова. – Челябинск: Цицеро, 2016. – 82 с.
34. Тоиров, А.С. Тактика при желчнокаменной болезни с осложнением механической желтухи/ А. С. Тоиров, А. С. Бабажанов, Б. М. Бобомурадов, Г. К. Ахмедов // Наука и мир. – 2019. – Т. 3. – № 5(69). – С. 62-64.
35. Федоров, В. Э. Синдром системного воспалительного ответа (SIRS) при осложнениях желчнокаменной болезни в сочетании с механической желтухой (обзор литературы) / В. Э. Федоров, Н. Б. Захарова, О. Е. Логвина // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2020. – Т. 179. – № 6. – С. 94-100.
36. Фомичева, Н.В. Диагностика и лечение при синдроме механической желтухи/ Н. В. Фомичева, А. Г. Шулешова, Д. Н. Ульянов [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 4(140). – С. 27-33;

37. Хаитов, Р.М. Иммунология учеб. литература для студентов медицинских вузов/ Р.М. Хаитов. – Москва: Медицина, 2000. – 432 с.
38. Ярилин, А. А. Иммунология/ А. А. Ярилин. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - С. 190.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 Е.И. Шишацкая

« 25 » июня 2021г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

Особенности цитокиновой регуляции механической желтухи
желчнокаменного генеза.

Руководитель



профессор, д.м.н.

О.В. Смирнова

Выпускник



В.Е. Пооль

Красноярск, 2021