

# СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ПРИ МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЕ

Шаповалов К.Г., Томина Е.А., Михайличенко М.И.,  
Иванов В.А., Витковский Ю.А.

Читинская Государственная медицинская академия, г. Чита

**Резюме.** При отморожениях наблюдаются значительные изменения систем иммунитета, гемостаза, неспецифической резистентности, важным связующим звеном которых являются цитокины. Целью исследования явилось изучение содержания цитокинов в крови больных в разные периоды местной холодовой травмы. Обследовано 50 больных мужского пола в возрасте 17-50 лет с отморожениями II-IV степени конечностей. Исследовали кровь артериального и венозного русла, а также кровь, оттекающую от поврежденной и интактной конечности. Определение концентрации цитокинов выполнено методом твердофазного иммуноферментного анализа. Установлено, что содержание TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8 и IL-18 в крови больных с отморожениями конечностей достигает максимума в раннем реактивном периоде травмы (повышается в 2,3-19 раз). Концентрация IL-1 $\beta$  превышает контрольные значения во все периоды отморожений. Уровень IL-18 в крови пациентов возрастает только в раннем реактивном периоде травмы. Концентрация IL-1 $\beta$  и IL-8 на протяжении дореактивного периода травмы в артериальной крови пострадавшей конечности больше, чем в венозной. В раннем и позднем реактивном периоде отморожений уровень провоспалительных цитокинов в крови, оттекающей от поврежденной конечности, больше, чем в венозной крови интактной конечности в 1,2-8 раз, а IL-4 — меньше в 2-5 раз.

**Ключевые слова:** цитокины, отморожение, холодовая травма.

*Shapovalov K.G., Tomina E.A., Mihailichenko M.I., Sizonenko V.A., Vitkovsky Y.A.*

## CONTENTS OF CYTOKINES IN BLOOD OF THE PATIENTS WITH LOCAL FROSTBITES

**Abstract.** Cytokines provide important connecting links between immunity, blood clotting, and nonspecific resistance that become altered in local frostbites. The aim of study was to determine the contents of cytokines in blood of patients with local frostbites at various terms following the lesion. Fifty patients, 17 to 50 years old, with frostbites of extremities (grade II to IV) were under observation. Arterial and venous blood, as well as venous blood from damaged and intact extremities were examined. Cytokine concentrations were determined using ELISA technique. It was shown that blood concentrations of TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8 and IL-18 reached their maximum at early reactive period of the trauma (a 2.3- to 19-fold increase). IL-1 $\beta$  concentration exceeded appropriate control values during all the periods of local frostbites. IL 18 levels were increased at early reactive period of the trauma. IL-1 $\beta$  and IL-8 concentration at pre-reactive period proved to be higher in arterial blood of damaged extremities, than in effluent venous blood. Both during early and late reactive periods, the levels of pro-inflammatory cytokines in effluent blood from damaged extremities were 1.2- to 8-fold higher than in venous blood from intact extremities, whereas IL-4 levels were 2- to 5-fold lower. (*Med. Immunol.*, 2008, vol. 10, N 1, pp 89-92)

## Введение

При местной холодовой травме происходят значительные изменения в иммунной системе: на-

рушается фагоцитарная активность лейкоцитов, снижается содержание Т- и В-лимфоцитов, возрастает концентрация отдельных видов иммуноглобулинов, изменяется уровень белков острой фазы воспаления и активность системы комплемента, отмечаются признаки хронической формы ДВС-синдрома [2, 3, 4, 7, 9, 10]. Важным связующим звеном этих событий являются цитокины [1, 5, 6, 11].

Клиническое течение отморожений состоит из биологически целесообразных процессов, за-

### Адрес для переписки:

Шаповалов Константин Геннадьевич  
672010, г. Чита, ул. Забайкальского Рабочего, 4, кв. 96.  
Тел.: (83022) 36-50-35, 8 (914) 501-04-78.  
E-mail: shkg26@mail.ru

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ, ОТТЕКАЮЩЕЙ ОТ ПОРАЖЕННОЙ КОНЕЧНОСТИ, У БОЛЬНЫХ С МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМОЙ, пг/мл ( $M \pm m$ )

Цитокины	Контроль, n = 12	ДП, n = 10	РРП, n = 20	ПРП, n = 30	ПГЭ, n = 15
TNF $\alpha$	3,1 $\pm$ 1,7	5,5 $\pm$ 2,1 p > 0,05	21,8 $\pm$ 3,5 p < 0,01 p <sub>1</sub> < 0,01	11,3 $\pm$ 2,4 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	7,4 $\pm$ 2,7 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
IL-1 $\beta$	6 $\pm$ 2	46 $\pm$ 12 p < 0,01	114 $\pm$ 21 p < 0,01 p <sub>1</sub> < 0,05	29 $\pm$ 7 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,01	19 $\pm$ 5 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
IL-8	27 $\pm$ 8	64 $\pm$ 11 p < 0,05	136 $\pm$ 24 p < 0,01 p <sub>1</sub> < 0,05	88 $\pm$ 17 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	37 $\pm$ 10 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
IL-18	342 $\pm$ 52	419 $\pm$ 91 p > 0,05	702 $\pm$ 123 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	364 $\pm$ 62 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	336 $\pm$ 84 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
IL-4	2,2 $\pm$ 1,2	2,4 $\pm$ 0,8 p > 0,05	13,8 $\pm$ 2,8 p < 0,01 p <sub>1</sub> < 0,01	8,7 $\pm$ 1,9 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	5,9 $\pm$ 0,5 p < 0,01 p <sub>1</sub> > 0,05

**Примечание:** p – достоверность относительно контроля; p<sub>1</sub> – достоверность относительно предыдущего периода.

кономерно сменяющих друг друга и определяющих периоды местной холодовой травмы [2, 8, 9, 10]. Однако до сих пор не установлены особенности динамики содержания цитокинов в крови пациентов с отморожениями конечностей. Решение этого вопроса позволило бы уточнить патогенез поражения низкой температурой и особенности течения воспаления при холодовой травме.

Целью исследования явилось изучение содержания цитокинов в крови больных в разные периоды местной холодовой травмы.

## Материалы и методы

Обследовано 50 больных мужского пола в возрасте 17-50 лет с отморожениями II-IV степени конечностей. Все пациенты находились на стационарном лечении в областном центре термической травмы на базе городской клинической больницы № 1 г. Читы в 2005-2007 гг. Поражение стоп выявлено в 29 случаях, кистей – в 11 случаях, кистей и стоп – в 10 случаях.

Из исследования исключались лица, имеющие тяжелую соматическую патологию (ИБС, гипертоническую болезнь, сахарный диабет), а также больные, у которых течение местной холодовой травмы осложнилось флегмоной, гнойными затеками, пневмонией. Распределение по группам проводилось в зависимости от периода травмы.

Первую группу составили 10 больных, поступивших в дореактивный период (ДП) местной холодовой травмы.

Во вторую вошли 20 пациентов, у которых кровь для исследования забирали в раннем реактивном периоде (РРП), до двух суток после получения травмы.

Третью группу составили 30 пострадавших в позднем реактивном периоде (ПРП) отморожений, то есть через 48 часов и более с момента поражения холодом.

В четвертую группу определены 15 больных, кровь которых забирали в период гранулирования и эпителизации (ПГЭ). В ряде случаев кровь пациентов исследована в динамике в разные сроки после травмы, вследствие чего они вошли в несколько групп.

Для сравнения уровня цитокинов в артериальной и венозной системе пораженной конечности нами исследовалась кровь, которую получали при проведении аспирационной пробы перед внутриартериальным введением лекарственных препаратов в ранние сроки после холодовой травмы.

Также проведено сопоставление концентрации цитокинов в венозной крови, оттекающей от поврежденной и неповрежденной конечности.

Определение концентрации TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8 и IL-18 выполнено методом твердофазного ИФА с использованием наборов реагентов фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Измерение их уровня осуществляли в соответствии с инструкцией фирмы производителя.

Статистический анализ проведен с помощью пакета программ Microsoft Excel с применением критерия Стьюдента.

## Результаты

Установлено, что в дореактивном периоде местной холодовой травмы содержание в венозной крови больных IL-18, IL-4 и TNF $\alpha$  не повышалось (табл. 1). Возрастала концентрация IL-1 $\beta$  – в 7,7 раза (p < 0,01) и IL-8 – в 2,4 раза (p < 0,05). Содержание в артериальной крови поврежденного сегмента конечности относительно уровня в оттекающей венозной крови IL-1 $\beta$  больше в 4,1 раза (p < 0,01), IL-8 – в 2,2 раза (p < 0,01) (табл. 2). Концентрация IL-18, TNF $\alpha$  и IL-4 в артериальном русле относительно венозного повышалась в меньшей степени (p > 0,05).

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В АРТЕРИАЛЬНОЙ И ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ПОРАЖЕННОЙ КОНЕЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ С МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМОЙ, пг/мл ( $M \pm m$ )

Цитокины	ДП, n = 10		РРП, n = 20	
	кровь из артерии	венозная кровь	кровь из артерии	венозная кровь
TNF $\alpha$	6,1 $\pm$ 1,3	5,5 $\pm$ 2,1 p > 0,05	14,4 $\pm$ 3,2	21,8 $\pm$ 3,5 p > 0,05
IL-1 $\beta$	187 $\pm$ 19	46 $\pm$ 12 p < 0,01	48 $\pm$ 11	114 $\pm$ 21 p < 0,01
IL-8	146 $\pm$ 16	64 $\pm$ 11 p < 0,01	72 $\pm$ 13	136 $\pm$ 24 p < 0,05
IL-18	402 $\pm$ 104	419 $\pm$ 91 p > 0,05	585 $\pm$ 112	702 $\pm$ 123 p > 0,05
IL-4	3,4 $\pm$ 0,7	2,4 $\pm$ 0,8 p > 0,05	9,9 $\pm$ 1,7	13,8 $\pm$ 2,8 p > 0,05

Примечание: p – достоверность между группами.

В раннем реактивном периоде травмы уровень IL-18 увеличивался относительно контроля в 2,3 раза, IL-8 – в 5 раз, IL-4 – в 6 раз, TNF $\alpha$  – в 7 раз, и, больше других, IL-1 $\beta$  – в 19 раз (табл. 1). Содержание всех исследуемых цитокинов в артериальной крови конечности в раннем реактивном периоде травмы меньше, чем в венозном русле в 1,2-2,5 раза, разница достоверна для IL-1 $\beta$  и IL-8 (p < 0,01) (табл. 2).

В позднем реактивном периоде, относительно предыдущего, содержание IL-1 $\beta$  уменьшалось в 3,9 раза, TNF $\alpha$  и IL-8 – в 1,9 раза (p<sub>1</sub> < 0,05) (табл. 1). Вместе с тем оставались повышены уровни в крови IL-1 $\beta$  – в 4,8 раза, IL-4 – в 4 раза, TNF $\alpha$  – в 3,6 раза и IL-8 – в 3,3 раза. Содержание IL-18 в этом периоде падало до контрольных значений.

Концентрация IL-1 $\beta$  в крови, оттекающей от поврежденного сегмента конечности, относительно неповрежденного, в раннем и позднем реактивном периодах травмы больше в 2,5-8 раз (p < 0,05), IL-8 – в 1,3-3,4 раза (p < 0,05), TNF $\alpha$  – в 1,3-2,5 раза (p < 0,05), IL-18 – до 2 раз (p > 0,05) (табл. 3). Уровень же IL-4, наоборот, выше в крови неповрежденного сегмента в 2-5 раз (p < 0,05).

В период гранулирования и эпителизации местной холодовой травмы отмечается превышение контрольных значений уровня в крови только IL-1 $\beta$  – в 3 раза и IL-4 – в 2,7 раза (табл. 1).

## Обсуждение

Содержание в крови пострадавших в дореактивный период травмы IL-18, IL-4 и TNF $\alpha$ , не превышающее контрольных значений, может быть связано с «отключением» периферии от общего кровотока, характерного для данного периода отморожений [2, 10]. Повышение концентрации IL-1 $\beta$  и IL-8 скорее отражает общую реакцию организма на появление очага альтерации и тотального сосудистого спазма, чем поступление этих молекул из поврежденных тканей. Возрастание значений IL-1 $\beta$  и IL-8 в артериальной крови поврежденной конечности относительно венозной подтверждает такой вывод. При низкой температуре метаболические процессы находятся на минимальном уровне [2], что тормозит местную продукцию цитокинов.

В раннем реактивном периоде травмы, после восстановления регионарного кровотока, наблюдается максимальное возрастание концентрации

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ПОРАЖЕННОЙ И ИНТАКТНОЙ КОНЕЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ С МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМОЙ, пг/мл ( $M \pm m$ )

Цитокины	РРП, n = 15		РРП, n = 15	
	кровь интактной конечности	кровь пораженной конечности	кровь интактной конечности	кровь пораженной конечности
TNF $\alpha$	10,7 $\pm$ 3,2	21,8 $\pm$ 3,5 p < 0,05	7,0 $\pm$ 1,9	11,3 $\pm$ 2,4 p > 0,05
IL-1 $\beta$	21 $\pm$ 5	114 $\pm$ 21 p < 0,01	12 $\pm$ 4	29 $\pm$ 7 p < 0,05
IL-8	69 $\pm$ 18	136 $\pm$ 24 p < 0,05	42 $\pm$ 11	88 $\pm$ 17 p < 0,05
IL-18	440 $\pm$ 95	702 $\pm$ 123 p > 0,05	341 $\pm$ 87	364 $\pm$ 62 p > 0,05
IL-4	39,4 $\pm$ 5,2	13,8 $\pm$ 2,8 p < 0,01	19,1 $\pm$ 4,1	8,7 $\pm$ 1,9 p < 0,05

Примечание: p – достоверность между группами.

в крови больных всех исследуемых цитокинов. Полученные данные соответствуют регистрируемым в эти же сроки лейкоцитозу, повышению концентрации острофазных белков, активации систем свертывания крови и фибринолиза, клиническим признакам системной реакции организма на воспаление [2, 3, 10]. Значительное повышение содержания в крови больных IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-8 именно в данном периоде травмы можно объяснить появлением обширной зоны как поврежденного, так и активированного холодом эндотелия, а также активным поступлением цитокинов в общий кровоток из пораженных тканей после купирования спазма. Уровень IL-4, очевидно, возрастает в ответ на повышение концентрации провоспалительных цитокинов [6, 11]. Содержание в крови IL-18 увеличивается в наименьшей степени, так как он не продуцируется эндотелием [11], а при отморожениях зона повреждения тканей ограничена по сравнению с ожоговой и механической травмой. Соответственно, повышение уровня цитокинов при холодом повреждении не достигает значений, регистрируемых при обширных термических ожогах [12].

Уровень цитокинов у больных с отморожениями в последующие периоды травмы снижался и в значительной степени отражал течение раневого процесса. При этом отмечается понижение содержания лейкоцитов в крови, уменьшается активность свертывающей системы, купируются клинические проявления системного характера ответной реакции организма на воспаление [2, 3, 9]. То есть в позднем реактивном периоде отморожений преобладают процессы отграничения очага повреждения, в частности, за счет локального тромбоза сосудов [4, 9, 10]. Активность эндотелиальной продукции цитокинов снижается, но их уровень может поддерживаться выше контрольных значений за счет процессов иммунного воспаления и противоинфекционной защиты.

В период гранулирования и эпителизации местной холодовой травмы раны освобождены от некроза, формируется грануляционный вал, активируется эпителизация [2]. Повышенный уровень в крови больных IL-1 $\beta$  поддерживается за счет многообразия его функций, включая противомикробную защиту и восстановление целостности поврежденных тканей [6, 11]. Превышение контрольных значений IL-4 в этом периоде отражает его противовоспалительную функцию, торможение системного ответа организма на воспаление.

## Выводы

1) Содержание TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8 и IL-18 в крови больных с отморожениями конечностей максимально возрастает в раннем реактивном периоде травмы.

2) Концентрация IL-1 $\beta$  превышает контрольные значения во все периоды холодовой травмы.

3) Уровень IL-18 в крови пациентов с отморожениями возрастает только в раннем реактивном периоде холодовой травмы.

4) Концентрация IL-1 $\beta$  и IL-8 в дореактивном периоде травмы в артериальной крови пострадавшей конечности больше, чем в венозной.

5) В раннем и позднем реактивном периоде отморожений уровень провоспалительных цитокинов в крови, оттекающей от поврежденной конечности, больше, чем в венозной крови интактной конечности в 1,2-8 раз, а IL-4 – меньше в 2-5 раз.

## Список литературы

1. Витковский Ю.А. Роль цитокинов в регуляции системы гемостаза: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия». – Чита, 1997. – 40 с.
2. Вихриев Б.С., Кичемасов С.Х., Скворцов Ю.Р. Местные поражения холодом. – Л.: Медицина, 1991. – 192 с.
3. Герасимов А.А. Состояние системы резистентности организма у здоровых людей и у больных с холодовой травмой в условиях Забайкалья: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия». – Чита, 1996. – 22 с.
4. Гольдерова А.С. Особенности иммуногематологического статуса больных с отморожениями в республике Саха (Якутия): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – ГОУ ВПО «Якутский государственный университет имени М.К. Аммосова». – Якутск, 2006. – 20 с.
5. Кузник Б.И., Витковский Ю.А. Иммунный ответ и система гемостаза // Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза. – Барнаул, 2000. – С. 119-127.
6. Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови. – Чита, 2002. – С. 155-181.
7. Котельников В.П. Отморожения. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
8. Рыбдылов Д.Д. Диагностика и лечение местной холодовой травмы // Мат. межобл. науч.-практ. конф. – Благовещенск, 2005. – С. 129-130.
9. Сизоненко В.А. Клиническая оценка и лечение местной холодовой травмы: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Военно-медицинская академия. – Л.; 1990. – 46 с.
10. Сизоненко В.А., Варфоломеева В.Р. Биорегулирующая терапия при термической травме. – Чита, 1999. – 160 с.
11. Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. – М.: Медицина, 2000. – С. 177-202.
12. Шаповалов К.Г. Механизмы иммунокорригирующей терапии при острой ожоговой токсемии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия». – Чита, 2003. – 18 с.

поступила в редакцию 14.11.2007

принята к печати 12.12.2007