

ПЕРИОПЕРАТИВНО ОДНЕСУВАЊЕ НА ЦИТОКИНИТЕ (IL-1, TNF- α И IL-6) КАЈ ОРАЛНОХИРУРШКИ ИНТЕРВЕНЦИИ СО КУМУЛИРАНА ХИРУРШКА ТРАУМА НА МЕКИ ТКИВА И КОСКА

Велеска-Стевковска Д.¹ Поповски В.², Спировски М.³, Ѓошевска-Даштевска Е.⁴

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, ¹Клиника за орална хирургија, ²Клиника за максилофаџијална хирургија

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, ³Институт за имунологија и хумана генетика, ⁴Клиника за очни болести

Вовед: Трауматскиите нокси во тек на оралнохируршката интервенција придвижуваат низа на различни локални и системски алтерации кај домаќинот. Најраниот целуларен настан во трауматизираното ткиво е рапидна активација на макрофагите со секреција на проинфламаторните цитокини IL-1 и TNF- α . Утврдено е дека иницијалната каскада на одговорот на домаќинот е поврзана со промени во микроциркулацијата: зголемена крвна перфузија, зголемен метаболизам, зголемена васкуларна пермеабилност и забрзување на леукоцитното рециркулирање.

Цел: Водејќи се според современите научно истражувачки трендови се формулираа и следниве цели на овој труд: да се определат серумските концентрации на цитокините IL-1 α , IL-6, TNF- α , да се определат евалуатното влијание на полот и возрастта врз имунолошката активност во периперативниот период, да се одреди обемноста на можното трауматско општеување при стандардниот оралнохируршкиот процедура со кумулирана хируршка траума и врз меко и врз коскено ткиво, да се земе во предвид комбицираноста на изведбата, како и корелацијата меѓу временскиот интервал на траење на интервенцијата и активността на

испитуваните имунолошки параметри и да се определат корелацијата помеѓу имунолошкото однесување и евалуатните објективни клинички компликации во постоперативниот период.

Материјал и метод: Беше опфатени 20 пациенти со дијагностицирани импакции на претни молари на Клиниката за Орална хирургија при Стоматолошкиот Факултет во Скопје каде што се утврди индицираността за оралнохируршка интервенција. Пред хируршката интервенција, 24 часа после испаата како и на седмиот ден од оперативната интервенција кај пациентите се регистрираа серумските нивоа на цитокините (IL-1 α , IL-6, TNF- α) со што се добива комплетна слика за активността на индивидуалниот имунитет. Лабораторските испитувања се извршија на Институтот за хумана имунологија и генетика при Медицинскиот Факултет во Скопје. За одредување на концентрацијата на цитокините (IL-1, IL-6, TNF- α) се користеше ELISA методот и апаратот Medgenix Diagnostics, Belgium.

Резултати и дискусија: Постоперативните вредности на испитуваните групи покажаа статистички значајно зголемување. Во нашиот испитуван материјал наидовме на податоци кои укажуваат на поврзаност на TNF- α промените при оралнохируршки интервенции и возрастта на пациентите. Локално продуцираните медијатори организмот според своите

индивидуални способности успева да ги одржи локално. (to keep them locally-stored Bone). Ова претставува добар исход на постоперативниот тек кај испитуваниот примерок. Постоперативните значајна позитивна корелација помеѓу времетраењето на интервенцијата, комплицираноста на интервенцијата и степенот на хируршка траума со појавата на постоперативните компликации: болка, едем, тризмус, нарушена функција и регионален лимфадениит. (т.е. со степенот на ослободување на локалните цитокини).

Заклучок: Брзото зголемување на нивоата на IL-1 α , TNF- α , IL-6 постоперативно демонстрираа и докажаа висока сензитивност, така што може да се потврдени нивната одговорност во системскиот имунолошки одговор на организмот и претставуваат погодни индикатори на ткивна траума. Со добиените резултати од нашите испитувани параметри, констатиравме дека е оправдана употребата на дијагностички тестови за одредување на нивоата на наведените цитокини како ориентири за степен на постоперативна инфламација и претставуваат ефикасни прогностички инструменти во рана дијагноза на постоперативна инфекција. Бенефитите од минимално инвазивната хирургија (како на пример минималната болка, побрз "recovery" и пократок хоспитален тек) можат да се поврзат со намалената цитокинска продукција. Отичука се наметнува и препораката за избор на методите на современата минимално инвазивна хирургија, пред методите на конвенционалната хирургија, во сите оние случаи каде што е индицирано.

Клучни зборови: цитокини; хируршка траума; имунологија; имуносупресија; орална хирургија

Цитокини

Цитокините се нискомолекуларни регулаторни протеини или гликопротеини кои дејствуваат на интензитетот и времетраењето на имунолошкиот одговор со стимулација или инхибиција на неговата активација, пролиферација или диференцијација на различни клетки. Се секретираат од леуцитите или различни други клетки како

одговор на разни стимулуси. Просечната молекулска маса изнесува 30 kD. Поседуваат α хеликс структура. Цитокините се поврзуваат за специфични рецептори на мембраната на таргет клетките предизвикувајќи сигнална трансдукција при што се менува генетската експресија на таргет клетките. Постојат 3 дејства на цитокините: автокрино (рецепторот е на клетката која го секретира цитокинет), паракрино (цитокинот се поврзува за својот рецептор во близина на клетката што го продуцирала) и ендокрино (рецепторот е во дистантните партии на организмот). Функциите на цитокините се многубројни: редувантно дејство (два или повеќе цитокини кои имаат слична функција), синергистичко (комбинираното дејство на два цитокини е поголемо од адитивниот ефект на индивидуалните цитокини) и антагонистичко (спротивен ефект).

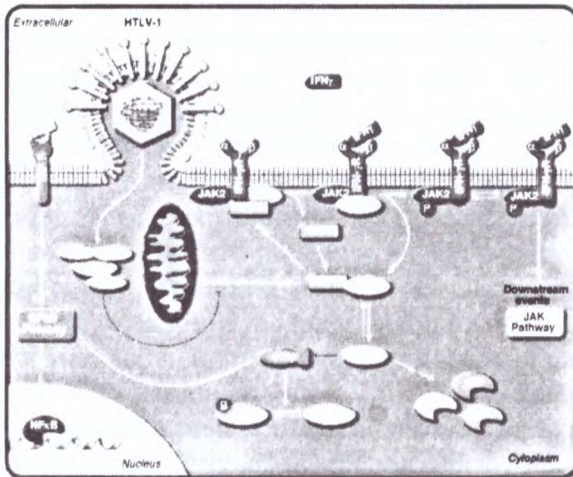
Видови на цитокини:

- IL-1 до IL-18
- TNF α и β - TNF фамилија
- IFN α , β , γ - интерферонска фамилија
- хематопоетинска фамилија, фактори за стимулација на колоните (GM-CSF, G-CSF, IL-2-7, IL-11-13, IL-15)
- фактори за трансформација на растот (TGF- α и β)
- фактори за инхибиција на миграциите (MIF, migration inhibition factor) предизвикуваат инхибиција на макрофагната миграција
- хемокини (IL-8) одговорни за хемотакса

Видови на рецептори:

- имуноглобулинска суперфамилија рецептори
 - Class 1 (хематопоетинска)
 - Class 2 (интерферонска)
 - TNF рецепторска фамилија
 - хемокинска рецептор фамилија (пр. IL-8)
- Class 1 и Class 2 цитокинските рецептори поседуваат цитокин специфична субединица и субединица за сигнална трансдукција. Рецепторот подложи на тирозинска фосфорилација. Пр. IFN- γ рецепторот се состои од α и β ланец. α субединицата е поврзана со JAK1 (Janus kinase, just another kinase) инактив-

на тирозин киназа, а β со JAK2. При поврзување на IFN- γ со рецепторот (IFN- γ е димер се поврзува со два рецептори) се спојуваат двете субединици и се активира JAK-регулираната фосфорилација при што STAT (signal transduction and transcription) дисоцира од рецепторот и се димеризира со уште една STAT молекула при што патува за нуклеусот. (STAT е поврзан за -SH доменот за рецепторот). Пред да се транслоцира во јадрото уште еднаш фосфорилира на серин резидуите. Под дејство на STAT се врши транскрипција на гени (6, 7, 18, 24, 27).



Слика 1. Сигнална трансдукција, превземено од [website:http://www.biocarta.com](http://www.biocarta.com)

Цитокините и хируршката траума

Сите штетни стимулиси и механички оштетувања делуваат на “будење” на одговорот на организмот наречен акутен фазен одговор, кој има за цел да ја минимизира штетата и да започне со процесот на заздравување. Често, не се работи за оптимална реакција, но за хипо или хипер реакција, иако поголемиот број на реакции есенцијално се бенефит за домаќинот. Директниот ефект на анестезијата на имунолошки клетки, хормоналните промени разбудени од страна на стресот, супресорната активација, појавата на супресивните серум фактори (8) и промените на цитокинската продукција,

исто така играат улога во постхируршката имunosупресија. Цитокинските мерења клинички се изведуваат на периферната крв, но отсуство на детектибилни цитокини во периферната крв, често не ја исклучува локалната продукција на цитокини во повредениот или инфламираниот орган. (33)

IL-1 го продуцираат сите клетки со нуклеус (вклучувајќи ги моноцитите, макрофагите, Б-лимфоцитите), NK (natural killer) клетките, фибробластите и мускулните клетки. Молекуларната тежина на IL-1 изнесува 17.500 D. Хуманиот IL-1 е претставен со две молекуларни форми IL-1 α и IL-1 β . Потенцијалот и биолошките ефекти се идентични на двете форми и тие се врзуваат со сличен афинитет на рецепторите (11). Двете форми се кодирани од различни гени со различни аминокиселински секвенци и поврзани во три димензионални нивоа. Некои клеточни типови продуцираат и трет ген кој кодира протеин IL-1 рецептор антагонист (IL-1ra) и претставува конкуретивен инхибитор на IL-1 α и IL-1 β . IL-1 ја индицира продукцијата на други цитокини. Неколку ткива продуцираат IL-1 константно пр.кожата содржи сигнификантни нивоа на IL-1, потта и урината. За разлика од ова макрофагите и др. клетки продуцираат IL-1 само при надворешни стимулуси пр. бактериски полисахарид (LPS). IL-1 предизвикува неколку мерливи клинички и биолошки активности, индукција на зголемена телесна температура, активација на ендотелни клетки и неутрофили, експресија на адхезивни молекули, индукција на хипотензија и шок (12). Стимулира продукција и на други цитокини IL-2, 4, 6, 8, GM-CSF и IFN- γ , се зголемуваат неговите концентрации брзо после траума вклучувајќи ја и умерената хируршка траума(14).

TNF е способен да се однесува независно или во комбинација со широк спектар на други фактори. Егзистира во две форми TNF α и TNF β . TNF α се продуцира од активирани макрофаги, а многу помалку од други клеточни типови, додека TNF β е примарно продукт на активирани Т лимфоцити. TNF α и TNF β се врзуваат за исти рецептори. Поседу-

ва полуживот од 15-18 мин, сепак и кратко-трајното негово присуство индицира метаболитички и хемодинамски промени. Во циркулацијата се присутни ендогени инхибитори (трансмембрански солубилни TNF рецептори-STNFRs) кои ја инхибираат евентуалната нерегулирана TNF активност. TNF α има цитотоксични ефекти на ендотелните клетки го зголемува атхерирањето на неутрофилите на ендотелните клетки преку регулација на атхезивните молекули (13) и ја зголемува васкуларната пермеабилност директно и индиректно, преку неутрофилна активација. Го помага ослободувањето на простагландин PGE₂, го активира PAF (тромбоцитниот активирачки фактор) и коагулациониот процес. TNF и IL-1 се најбитни индуктори на акутен фазен одговор.

IL-6 поседува молекуларна тежина од 26kD. Неговите главни карактеристики вклучуваат синергизам со IL-1 и TNF со цел да го костимулираат имунолошкиот одговор и да индуцираат продукција на акутни фазни протеини. Поседува краток животен век околу 1 час. По траума неговите вредности можат да се детектираат по 1 час, пикот на неговата концентрација го достигнува по 4-6 часа и можат да бидат присутни 10 дена во циркулацијата. Овој цитокин е константно детектиран во плазмата при што овој факт сугерира на неговата константна продукција. Утврдено е дека интестиналниот извор на IL-6 е "background" за неговите детектибилни нивоа во плазмата. Се создава и во фагоцитите, васкуларните ендотелни клетки и фибробластите. IL-6 овозможува В-клеточна репликација, диференцијација и имуноглобулинска продукција. IL-6 и IL-1 се медијатори за акутниот фазен одговор (CRP, фибриноген, хаптоглобин, амилоид α , α -1-антитрипсин и комплемент активација-С3 и фактор Б.). Поседува имуномодулаторни карактеристики вклучувајќи иницирање на PMN (полиморфонуклеарни леукоцити)-медирана хиперинфламација и парадоксално одложена имуносупресија на домаќинот. IL-6 може да служи и како антиинфламаторен медијатор преку еден софистициран

механизам на ослободување на sTNFs (солубилните TNF рецептори) и IL-1ra, при што доведува до атенуирање на функционалните способности на TNF и IL-1. IL-1 не ги регулира главните инфламаторни медијатори како на пр. PG, nitric oxid, матриксметало-протеази, и не ја вклучува синтезата на атхезиони молекули инволвирани во инфламаторниот одговор како на пр. ICAM-1 (4). IL-6 дури и инхибира неколку клучни инфламаторни одговори (72) на тој начин што влијае на излучувањето на PGE₂, кој претставува моќен имуносупресивен медијатор на Т-кл и макрофагите. Од своја страна пак PGE₂, индуцира ослободување на IL-10 кој е моќен антиинфламаторен медијатор кој од своја страна пак ги деактивира моноцитите. Ова го објаснува фактот зошто IL-6 го штити организмот од морталитет при септичен шок или токсичен шок, што е демонстрирано со администрирање на неутрализирачки антитела против IL-6. Како и да е, зголемени плазма концентрации се регистрирани при акутни состојби како хируршка интервенција, изгореници и бактериска инфекција. IL-6 е тесно асоциран со настаниите во постоперативниот период (елективна хирургија) или после траума, зголемените нивоа на IL-6, 48 часа постоперативно претставуваат аларм за можна инфективна постоперативна компликација, присутна имуносупресија или се одговор на организмот на хиперинфламаторна состојба (32). Постои и значајна корелација на вредностите на IL-6 и возраста. Сепак, IL-6 останува цитокин најконстантно елевирани или најлесно детектибилен.

Приказ на меѓусебното дејство на цитокините:

IL-6 \rightarrow TNF- α \rightarrow IL-1, IL-6
 IL-1 \rightarrow **CRP** TNF- α , IL-1 \rightarrow IL-2,4,6,8, GSM-CSF, IFN- γ
 TNF- α \rightarrow

Цитокински одговор на хируршката интервенција

Хируршката интервенција и траумата индуцираат серија на инфламаторни одгово-

ри како на пример елевација на телесната температура, зголемена седиментација, леукоцитоза, и зголемени нивоа на акутни фазни протеини. Најсовремените истражувања посочуваат дека овие одговори се медирано од цитокините: IL-1, TNF, IL-6. Пр. одговорот на IL-6 е детектиран 4-6 часа постоперативно и пред зголемувањето на циркулирачките акутни фазни протеини. Одговорот не е секогаш брз, но може да биде долготраен.

Постои корелација помеѓу цитокинските нивоа и степенот на хируршка траума-поекспонирана траума дава поголеми промени. Исто така и времетраењето на хируршката интервенција и анестезијата го детерминираат цитокинскиот одговор. Shenkin et al. (29) детектираат зголемени нивоа на IL-6, 30мин. по инцизија на кожа. Cruickshank et al. (9) детектира зголемени нивоа на IL-6 во тек на првите 2-4 часа постоперативно. Видот на интервенција е многу сигнификантен во однос на цитокинскиот одговор, пр. абдоминалните интервенции покажуваат висок скок на цитокински одговор. IL-6 е единствен цитокин константно елевирани по ткивна траума и постои јасна корелација помеѓу пролонгирани и екцесивни IL-6 елевации и морбидитетот и морталитетот. Познавањето на патофизиолошкиот одговор на цитокините е база за интервентна терапија со цел да се модулира одговорот на хируршка траума.

Според теоријата на Bone (5) одговорот на цитокините на траума е поделен на 3 фази:

1. Постои локална продукција на цитокини како реакција на локална повреда
2. Мал дел на цитокините се присутни во системската циркулација што помага да се оптимизира одбранбениот механизам
3. Циркулирачките нивоа на цитокини повисоки отколку што се потребни за репараторниот период и се однесуваат на начин кој е негативен за организмот. Во оваа фаза може да биде

присутен системски инфламаторен одговор, systemic inflammatory response (SIRS) кој ако не се третира може да биде фатален.

Според ова, пониски нивоа на мерливи цитокини во системската циркулација постоперативно, се целта за која вреди да се инсистира. Значи локално продуцираните цитокини потребно е да се “држат” локално.

Martin Angele, Irshad Chaudry (21) посочуваат на фактот дека коскениот оштетување во коњукција со траумата на мекото ткиво продуцираат протрахирана депресија на имунолошката функција за разлика од траумата на мекото ткиво без коскена траума. Овие податоци сугерираат за можните адитивни ефекти на трауматското оштетување врз депресијата на имунолошките функции. Во нивната студија авторите сугерираат на можните патофизиолошки механизми на имunosупресија при хируршките интервенции: депресија на експресијата на HLA-DR (Human leukocyte antigen receptor), намалување на антиген-презентирачкиот капацитет на макрофагите, намалување на метаболичкиот капацитет на организмот, пореметување на хомеостазата помеѓу про-инфламаторните и анти-инфламаторните цитокини, NO и простагландините се одговорни за депресијата на антиген-презентирачките клетки, евентуалните дефекти во Т клеточната пролиферација и цитокин секреција доведуваат до редуцирана секреција на IL-2, IFN- γ и TNF- α .

Водејќи се според современите научно-истражувачки трендови кои ја актуелизираат блиската релација помеѓу факторот хируршки трауматски стрес и неговото директно влијание врз првиот и непосреден неспецифичен одговор, а со цел да се обезбеди мирен и без компликации постоперативен тек со брз, комплетен и функционален “recovery” на организмот се формулираа и следниве цели на овој труд:

1. Да се определат серумските компоненти на цитокините квантитативно и нивната квалитативна активност во периперативниот период.

2. Да се определи корелацијата помеѓу степенот на трауматското оштетување и нивоата на цитокините IL-1 α , IL-6, TNF- α во периоперативниот период. Да се земе во предвид комплицираноста на изведбата, како и корелацијата меѓу временскиот интервал на траење на интервенцијата и активноста на испитуваните имунолошки параметри. Да се определи евентуалното влијание на полот и возраста врз имунолошката активност во периоперативниот период. Да се определи корелацијата помеѓу имунолошкото однесување и евентуалните објективни клинички компликации во постоперативниот период.
3. Да се стандардизира еден протоколарен став за минимизирање на трауматскиот стрес, елиминирање на кумулативното дејство на други стресогени фактори од нетрауматско потекло во периоперативниот период, и да се одреди протоколарна медикаментозна терапија вклучително и имуно-терапија.

Материјал

Избор на пациенти и протокол за работа

Со цел да се изведат поставените цели од испитувањето беа опфатени 20 пациенти на Клиниката за Орална хирургија при Стоматолошкиот Факултет во Скопје каде што се утврди индицираност за оралнохируршка интервенција (дијагностицирани импактирани трети молари) после деталната анамнеза, екстраорален и интраорален клинички преглед и рентгенолошката анализата. Исто така полот и возраста на пациентите беа земен во предвид. Во оваа студија беа вклучени пациенти кои пред приемот немаа клинички знаци за инфекција или неоплазија и не беа претходно третирани најмалку три месеци пред закажаниот датум за интервенција.

Секоја хируршка интервенција беше карактеризирана со своите квантитативни и квалитативни атрибути како што се: вид на интервенција, времетраење на истата, комплицираност на изведба како и степен на хируршка трауматизација на периостот и коскното ткиво (остетомија).

Пред хируршката интервенција, 24 часа после истата како и на седмиот ден од оперативната интервенција кај пациентите се регистрираа серумските нивоа цитокините (IL-1 α , IL-6, TNF- α) со што се добива слика за активноста на индивидуалниот имунитет.

Примероците од венска крв се земаа во количина од 10 ml. Земените крвни примероци беа чувани на температура од 2-6 $^{\circ}$ C до 24 h. После тоа истите се центрифугираат и се чуваат на температура од -20 $^{\circ}$ C се до моментот на лабораториското иследување.

Во интерес на испитувањето беше и корелацијата помеѓу нивните варијации пред и 24 часа по интервенција и објективните постоперативни компликации на првиот ден по интервенцијата од општ (мерење на телесна температура) и локален карактер, присуство на постоперативна болка, едем, хематом, постоперативна инфекција, тризмус и *functio lesa*. Седмиот постоперативен ден се врши "sutura ex" и е без клинички особености.

Постоперативно кај пациентите во првите 24ч, заради потребите на испитувањето и потребата од автентични резултати не администриравме антибиотска и антиинфламаторна терапија

Метод

Лабораториските испитувања се извршија на Институтот за хумана имунологија и генетика при Медицинскиот Факултет во Скопје. За одредување на концентрацијата на цитокините (IL-1, IL-6, TNF- α) се користеше ELISA методот и апаратот Medgenix Diagnostics, Belgium.

Принцип на одредување на концентрација на цитокини - ELISA метод

За одредување на нивото на цитокините можат да се користат различни телесни течности (урина, серум, плазма, синовијална течност), но како најчест примерок се користат плазмата и серумот. Потребени се од 50-200 μ L серум или плазма. Крвта се зема со венепункција, се остава да сосири и се одвојува серумот со центрифугирање (5 мин. на 4000 ввм). Доколку е потребно да се чува примерокот подолго од 1 ден, се држи на температура од -20 $^{\circ}$ Ц, а ако е потребно да се чуваат примероците подолго од една недела, се чуваат на -80 $^{\circ}$ С.

Концентрацијата на цитокините во примерокот се одредува со помош на ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) методот

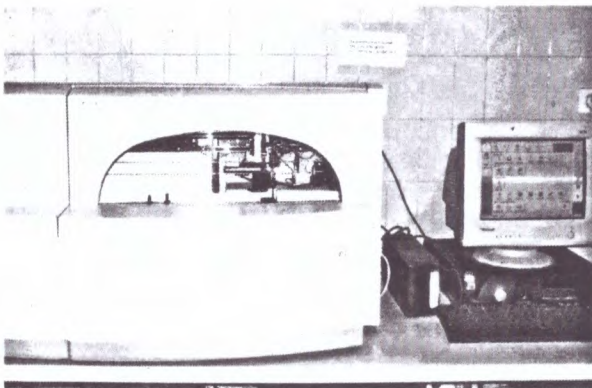
(Medgenix Diagnostics, Belgium). Денес постојат најразлични комерцијално достапни комплекти за одредување на концентрацијата на цитокините кои не секогаш даваат приближно еднакви резултати. Имунолошките тестови претставуваат алтернатива за биолошките методи и проточната цитометрија. Едноставни се за изведување при што резултатите се добиваат за неколку часа.

Статистичка обработка

Статистичката анализа изработена е со статистички програм STATISTICA 7.

Резултати и дискусија

Варијациите на IL-1 α , IL-6 и TNF- α дадени се табеларно и графички.



Слика 2.

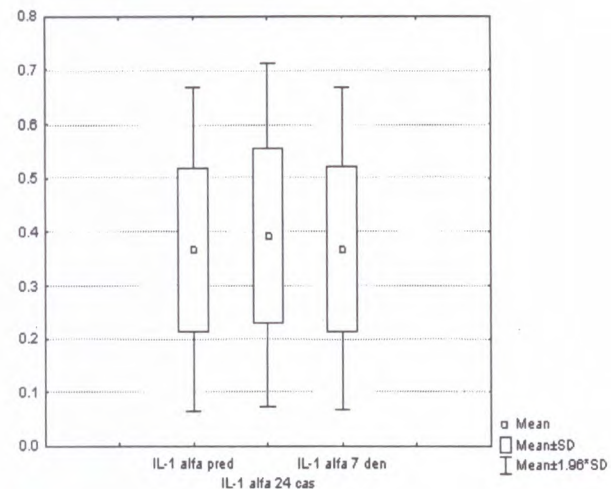


Слика 3

Лабораториски имунолошки апарати

ТАБЕЛА 1. ПРОМЕНИ ВО IL-1 α

IL-1 α	N	Mean	Confidence -95.0%	Confidence +95.0%	Min
IL-1 α /пред	20	0,37	0,29	0,44	0,21
IL-1 α /24 часа	20	0,39	0,32	0,47	0,21
IL-1 α /7 ден	20	0,37	0,29	0,44	0,21



Графикон 1. Промени во IL-1 α .

ТАБЕЛА 2. ПРОМЕНИ ВО IL-1 α / РАЗЛИКИ

Параметар	N	T	Z	p-level	p	Sig/ N. Sig.
IL-1 α пред / IL-1 α 24 часа	20	33,00	2,50	0,013	p<0,05	Sig.
IL-1 α пред / IL-1 α 7 ден	20	13,00	2,48	0,013	p<0,05	Sig.

IL-1

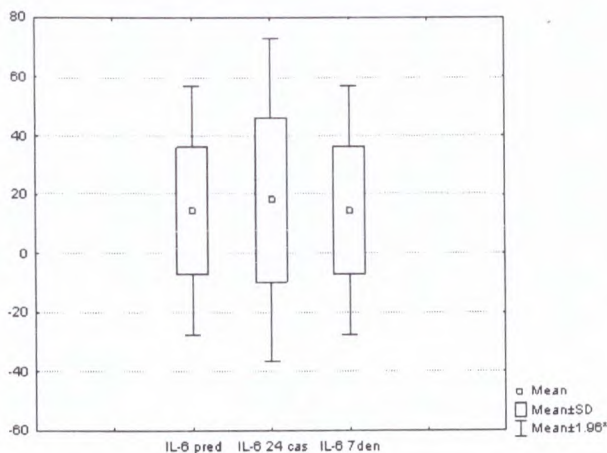
Во студиите на следниве автори се потенцирани зголемувањата на нивоата на IL-1 постоперативно: Mokart D. et al. (25) AO Aasen et al. (1), Huang Tsung-Jen et al. (17).

Додека, Baigrie RJ et al. (3), I. Grzelak, W.L. Olszewski et al. (15) наведуваат дека во своите испитувања не детектираат промени на серумските нивоа на овој цитокин.

За појава на можна имunosупресија даваат податоци следниве автори: Martin K Angele and Eugen Faist (20), Martin Angele, Irshad Chaudry(21).

ТАБЕЛА 3. ПРОМЕНИ ВО IL-6

IL-6	N	Mean	Confiden. -95.0%	Confiden. +95.0%	Min	Max	Std.Dev
IL-6/пред	20	14,47	4,36	24.58	0,92	67,70	21.59
IL-6/24 часа	20	18,27	5,21	31.34	1,34	89,90	27,92
IL-6/7 ден	20	14,53	4,44	26.62	0,94	67,90	21.57



Графикон 2. Промени во IL-6

ТАБЕЛА 4. ПРОМЕНИ ВО IL-6 / РАЗЛИКИ

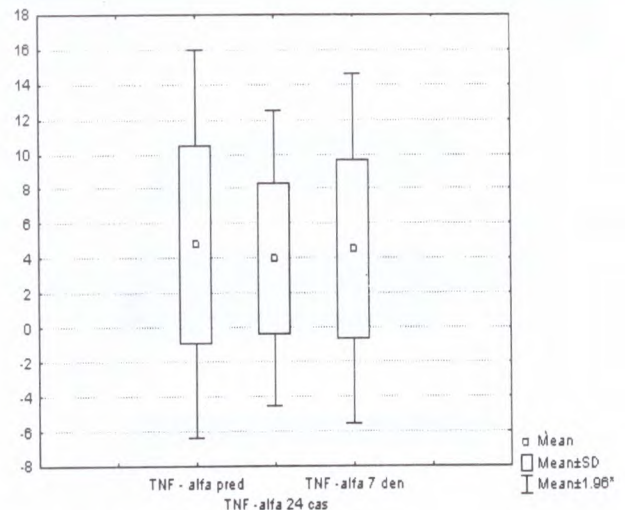
Параметар	N	T	Z	p-level	p	Sig/ N. Sig.
IL-6 пред / IL-6 24 часа	20	24,00	3,02	0,002	p<0,01	Sig.
IL-6 пред / IL-6 7 ден	20	33,50	2,67	0,008	p<0,01	Sig.

IL-6

За зголемување на вредностите на IL-6 постоперативно рапортираат следниве автори: Roland Prondzinsky, Axel Knüpfer, Harald Loppnow (28), Mokart D et al. (25), R. J. Baigrie et al. (3), Moto Kashiwabara, Masao Miyashita, Tsutomu Nomura, Hiroshi Makino (26), Decker D et al. (10), M. Maruszynsk, Z. Pojda (22) додека Akira Kudoh, Hiroshi Katagai, Tomoko Takazawa (2) даваат податоци за нивно намалување.

ТАБЕЛА 5. ПРОМЕНИ ВО TNF- α

IL- α	N	Mean	Confiden. -95.0%	Confiden. +95.0%	Min	Max	Std.Dev
IL- α / пред	20	4,81	2,14	7.47	0,17	17,79	5,69
IL- α / 24 часа	20	3,98	1,94	6.03	0,18	13,20	4,37
IL- α / 7 ден	20	4,52	2,12	6.93	0,18	15,99	5,14



Графикон 3. Промени во TNF- α

ТАБЕЛА 6. ПРОМЕНИ ВО TNF- α / РАЗЛИКИ

Параметар	N	T	Z	p-level	p	Sig/ N. Sig.
TNF-1 α пред / TNF-1 α 24 часа	20	101,00	0,15	0,881	p<0,05	N. Sig.
TNF α пред / TNF α 7 ден	20	61,00	1,37	0,171	p<0,05	N. Sig.

TNF- α

Претставува најран и најмоќен медијатор на имуниот одговор, со брз и многу краток век на постоење. Сепак може да иницира метаболички и хемодинамски промени активирајќи ги цитокините иако со полуживот од 15-18 мин. Пикот во плазмата го достигнува по 90мин од стимулацијата. Претставува високо сензитивен параметар со брзи и остри пикови веднаш по оперативниот третман.

Постоперативните алтерации т.е зголемувањето или намалувањето на цитокинските нивоа сигнификантно зависат од TNF генскиот полиморфизам. Инфекциите, тешките повреди и хируршката траума е познато дека го афектираат целуларниот имунитет, кој се смета дека е одговорен за секундарните компликации пр. сепса или "multiple system organ failure". Детекцијата на "ex vivo" LPS (lipopolisaharid)-стимулиран цитокинский одговор е широко употребуван како индикатор на компромитиран одговор на домакиниот при акцидент или хируршка траума.

Голем број на автори Menger Michael, Vollmar Brigitte (23), Takashi Kawasaki, Masanon Ogata et all. (31), Martin K. Angele, Irshad H. Chaudry (20), Akira Kudoh, Hiroshi Katagai, Tomoko Takazawa (2), сугерираат на појавата на намалување на вредностите на TNF- α по хируршката интервенција што се совпаѓа и со нашите резултати и што упатува на евентуална имunosупресија на организмот како неадекватен одговор на стресот. Во нашиот испитуван материјал кај 50% од испитаниците дојде до намалување на вредностите на TNF- α постоперативно, а кај преостанатиот дел до зголемување на исти-

те. Поради нехомогеноста на групата добие-ните резултати се несигнификантни.

Корелации

Дадени се само статистички значајните корелации. Испитувајќи ја поврзаноста помеѓу хируршкиот трауматски стрес и вредностите на системските параметри добивме слаба позитивна корелација, што означува дека испитаниците се разликуваат меѓу себе само со бројот на остеомирани површини што дава дискретен импакт на системските анализирани параметри (слаба корелација). Локално продуцираните медијатори организмот според своите индивидуални способности успева да ги одржи локално (to keep them localy)- според Bone (5). Ова претставува добар исход на постоперативниот тек кај испитуваниот примерок. Друга група на автори јасно ја прецизираат различноста на ефектите врз имунолошкиот систем кај различни видови на ткива како и квантитативното ниво на ослободување на медијаторите на инфламацијата кај различни видови на ткива (коскено ткиво содржи поголем број на медијатори на ткивно оштетување отколку меките ткива)

Withmann, Mattias W (34) го испитуваат влијанието на изолирани ткивни оштетувања, на меко ткиво или на коскено ткиво како и комбинирани ткивни оштетувања (мекоткивни и коскени) врз имунолошкиот систем, при што доаѓаат до заклучок дека кај комбинирани ткивни оштетувања постои сигнификантна депресија на IL-2, IL-3 и на IL-1, IL-6 во однос на изолираното ткивно оштетување.

Загревањето на коскено ткиво при оралнохируршките интервенции според Sternfeld DS, Ogle CK (30) квалитативно ја менуваат моноцитно-макрофагната функција дури и квантитативно и квалитативно делуваат на хематопоезата. Овие клетки продуцираат помалку акутни фазни протеини (APPs) C3 и трансферин, но имаат поголема цитотоксичност измерена според ослободувањето на l-lactat dehidrogenaza.

Корелација: Вид на интервенција / IL - 1 α (24 часа)

Испитаниот однос помеѓу видот на интервенција (интервенции каде се екстрахираат само импактираните заби и интервенции каде освен импактираните заби се екстрахираат симултано и други соседни заби) и IL-1 α (24 часа по интервенцијата) за $R=-0.47$ покажува средно јака негативна корелација, што значи дека при зголемување на хируршката траума при интервенција (зголемување на број на истовремено екстрахирани заби) се намалуваат постоперативните вредности на анализираниите параметри, односно се зголемува веројатноста за постоперативна имunosупресија.

Корелација: Вид на интервенција / TNF - alfa

Испитаниот однос помеѓу видот на интервенција (и TNF - α (24 часа по интервенцијата) за $R=-0.54$ покажува средно јака негативна корелација.

Корелација: пол/имунолошка реакција

Разликите помеѓу анализирани параметри, кога е во прашање дистрибуцијата по пол, за $p>0.05$ не е значајна.

Машките полови хормони поседуваат имunosупресивни способности, за разлика од женските полови хормони кои поседуваат имунопротективни карактеристики според студијата на Martin Angele, Irshad Chaudry (21).

Корелација:возраст/имунолошки одговор

Постојат податоци во литературата, испитувања на Kiecolt-Glaser J.K., Glaser R (19) дека IL-6 природно се зголемува со возраста и поврзан е со заболувањата на срцето, тип 2 дијабет, остеопороза и други кондиции поврзани со возраста. Утврдено е дека оние индивидуи кои долго време биле под хроничен стрес, продолжуваат да имаат високи нивоа на IL-6 и по престанок на дејството на хроничниот стресор. Исто така покажуваат висока вулнерабилност на вирусни инфекции, зголемен крвен притисок и побавно зараснување на рани.

State of mind affects one's state of health (mind-body interaction) (19) Во нашиот испитуван материјал наидовме на податоци кои укажуваат на поврзаност на TNF- α промените при оралнохируршки интервенции и возраста на пациентите. Се работи за автентични резултати.

Заклучоци

- Хируршката интервенција причинува имун и акутен фазен одговор, асептична инфламаторна реакција, што универзално ги придружува сите видови на траума.
- Брзо зголемување на нивоата на IL-1 α , TNF- α , IL-6 постоперативно демонстрираа и докажаа висока сензитивност, така што може да се потенцира нивната одговорност во системскиот имунолошки одговор на организмот и претставуваат погодни индикатори на тивна траума.
- Нашите локални орално хируршки интервенции имаат СИСТЕМСКИ ЕФЕКТИ!
- При оралнохируршките интервенции постои кумулативен ефект на периоперативниот стрес: хируршки трауматски стрес, психолошки стрес и анестетички стрес.
- Со добиените резултати од нашите испитувани параметри, констатиравме дека е оправдана употребата на дијагностички тестови за одредување на нивоата на наведените цитокини како ориентири за степен на постоперативна инфламација и истите претставуваат ефикасни прогностички инструменти во рана дијагноза на постоперативна инфекција. Знаењето на цитокинските нивоа може да им даде увид на клиничарите во интрацелуларните промени (интрацелуларно мислење) како и насока во понатамошниот третман.
- Многу големи нивоа на сите измерени параметри постоперативно и одржува-

ње на нивното високо ниво по 4 ден (хиперреакција) асоцира на можни компликации, постоперативна инфекција и развој на септичен шок. Состојбата има исти негативни ефекти како и имunosупресијата (хипореакција-hyporesponsivness)

- Според нашите испитувања и според голем број на студии и цитирани автори се потврдува тезата дека колку што е поголем степенот на хируршка траума (меко ткиво, периост, коскено ткиво) толку е поголема веројатноста за неадекватна реакција на организмот т.е. имunosупресија.
- Локалните постоперативни компликации зависат од степенот на ослободување на локалните цитокини. Системските цитокини и другите анализирани параметри се одговорни за општиот имунолошки статус на организмот постоперативно.
- Бенефитите од минимално инвазивната хирургија (како на пример минимална болка, побрз “recovery” и пократок хоспитален тек) можат да се поврзат со намалена цитокинска продукција. Оттука се наметнува и препораката за избор на методите на современата минимално инвазивна хирургија, пред методите на конвенционалната хирургија, во сите оние случаи каде тоа е индицирано
- Индивидуите кои страдаат од хроничен стрес покажуваат поголем степен на имunosупресија при оралнохируршки интервенции, логично поради исцрпените механизми на адаптација кон акутниот стресор-интервенцијата. Се наменува потребата од додавање на уште едно прашање во анамнезата:

“дали сте под стрес?” На тој начин би се селектирале оние пациенти кај кои полесно би ја предвиделе веројатноста за неадекватна постоперативна реакција.

- Во согласност со претходно изнесените заклучоци се подразбира важноста од минимизирање на трауматскиот стрес во тек на оралнохируршките интервенции, преку фаворизирање на атрауматскиот пристап, минимизирање на притисокот и вибрациите во тек на интервенцијата, намалување на температурата што се развива во тек на остеотомијата (користење на системи со континуирано внатрешно и надворешно ладење, намалување на бројот на вртежи во минута на инструментите), користење на борери од висококвалитетен материјал и со доволна острина.
- Со подеднаква важност е и елиминацијата на стрес факторите од нетрауматско потекло преку користење на премедикацијата (анксиолитици, аналгетици) како и психолошките техники и стратегии за редуција на стресот (stress reduction strategies).
- Се препораува антибиотска и антиинфламаторна профилакса при комплицирани, долготрајни и обемни интервенции
- Стероидите, не-стероидните антиинфламаторни агенси, цитокините IL-4, IL-10, IL-13 ја редуцираат продукцијата на проинфламаторните цитокини. Најсовремената администрација на овие агенси може да биде ефективна во атенуирањето на посттрауматската и постоперативната хиперинфламација

PERIOPERATIVE RESPONSE OF CYTOKINES (IL-1, TNF- α I IL-6) DURING ORAL SURGERY INTERVENTIONS WITH CUMMULATIVE SURGICAL TRAUMA OF SOFT TISSUES AND BONES

Veleska-Stevkovska D., Popovski V.,
Spirovski M., Doševska-Daštevka E.

Summary

Introduction: During the oral surgical operation, the traumas cause a number of different local and system alterations to the host. The earliest cellular occurrence in the traumatized tissue is rapid activation of macrophages accompanied by secretion of pro-inflammatory IL-1 and TNF- α . It has been ascertained that the initial cascade of the host's response is connected with fluctuations in microcirculation: increased blood perfusion, increased metabolism, increased vascular permeability and acceleration of leukocyte recirculation.

Objective: In accordance with modern scientific research trends, the following objectives of this work have been formulated: determining the cytokines IL-1 α , IL-6, TNF- α ; determining the possible sex and age effects on the immunological activity in the peri-operative period; specifying the signs of the possible traumatic damage in the course of standard oral surgical procedures -cumulated surgical trauma on both soft and bone tissue; taking into account the complexity of the operation, as well as the correlation between the time interval of the intervention and the activity of the examined immunological parameters; determining the correlation between immunological behavior and the possible objective clinical complications throughout the post-operative period.

Material and method: The research was conducted over 20 patients at the Clinic of Oral Surgery at the Faculty of Stomatology who had an indication of oral surgical intervention, namely, patients diagnosed with impaction. The serum levels of the cytokines of the patients were registered before the surgical intervention, 24 hours after it, and on the seventh day after it, which

enabled the formation of a complete image of the individual immune system activity. The laboratory research was carried out at the Institute of Human Immunology and Genetics at the Medical Faculty in Skopje, using the ELISA method and the device Medgenix Dianostics, Belgium were used for determining the concentration of the cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α).

Results and discussion: Post-operative values of the examined group showed statistically important. Our examined material led to data that show connection between the changes in TNF- α during oral surgical interventions and the age of the patients. The subjects differ only with respect to the number of the osteotomized surfaces which has discrete impact on the analyzed system parameters (weak correlation). The organism manages to keep locally the locally produced mediators (to keep them locally according to Bone). This is a good result of the post-operative course of the examined specimen. There is statistically positive correlation between the duration of the intervention complexity and the degree of the surgical trauma with the occurrence of the post-operative complications: pain, edema, trismus, damaged functions and regional lymphadenitis (i.e. with the degree of local cytokine release).

Conclusion: The rapid post operative increase of the levels of the IL-1 α , TNF- α , IL-6, demonstrated and proved high sensitivity which is a reason for emphasizing their responsibility in the systematic immunological response of the organism and they are suitable indicators of tissue trauma. By means of the results from the examined parameters we concluded that the use of diagnostic tests for determining the level of the mentioned cytokines as points of reference for the degree of post-operative inflammation is justified and they represent efficient prognostic instruments for early diagnosis of post operative infection. The benefits of the minimal invasive surgery (such as minimal pain, quicker recovery and shorter hospitalization) can be connected with decreased cytokine production. Therefore, we are inclined to suggest choosing the methods of the modern minimal invasive surgery rather than the methods of conventional surgery in all the cases where that is indicated.

Key words: cytokines; surgical trauma; immunology; immunosuppression; oral surgery

Литература

1. Aasen AO, Krohn CD and Wang JE, Immunological and Inflammatory consequences of surgical trauma, Institute for Surgical Research

- and Centre for Orthopedics, Rikshospitalet, The National Hospital, University of Oslo, Norway http://www.shocksocieties.org/meetings/7th_viena_shockforum/abstracts/Aasen.html
2. Akira Kudoh, Hiroshi Katagai, Tomoko Takazawa (2001). Plasma inflammatory cytokine response to surgical trauma in chronic depressed patients, *Cytokine* 13(2):104-108
 3. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ (1992). Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg* 79(8):757-60
 4. Barton BE (1997). IL-6: Insights into novel biological activities. *Clin Immunol Immunopathol* 85:16-20
 5. Bone RC (1996). Towards a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med* 24:163-172
 6. Cheng H, Cenciarelli C, Shao Z, Vidal M, Parks WP, Pagano M, Cheng Mayer C. (2001). Human T cell leukemia virus type 1 Tax associates with a molecular chaperone complex containing hTid-1 and Hsp70. *Curr Biol* 11(22):1771-5
 7. Cheng H, Cenciarelli C, Tao M, Parks WP, Cheng Mayer C. (2002). HTLV-1 Tax-associated hTid-1, a human DnaJ protein, is a repressor of I κ B kinase beta subunit. *J Biol Chem* 277(23):20605-10.
 8. Constantian MB, Menzoian JO, Nimberg RB, Schmid K, Mannick JA (1977). Association of a circulating immunosuppressive polypeptide with operative and accidental trauma. *Ann Surg* 185:73-79
 9. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A (1990). Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci* 79:161-165
 10. Decker D, Lindemann C, Low A, Bidlingmaier F, Hirner A, von Ruecker A (1997). Changes in the cytokine concentration (IL-6, IL-8, IL-1ra) and their cellular expression of membrane molecules (CD25, CD30, HLA-DR) after surgical trauma. *Zentralbl Chir* 122: 157-63; 163-4.
 11. Dinarello CA (1991). IL-1 and IL-1 antagonism *Blood*. 12:404-409.
 12. Dinarello CA, Wolff SM (1993). The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 328:106-113
 13. Gamble JR, Harlan JM, Klebanoff SJ, Vadas MA (1985). Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:8667-8671
 14. Grzelak I, Olszewski WL, Rowinski W (1989). Blood mononuclear cell production of IL-1 and IL-2 following moderate surgical trauma. *Eur Surg Res* 21:114-122
 15. Grzelak I., Olszewski W.L., Zaleska M., Ziolkowska A. (1998). Surgical Trauma Evokes a Rise in the Frequency of Hematopoietic Progenitor Cells and Cytokine Levels in Blood Circulation. *European Surgical Research* 30:198-204
 16. <http://www.biocarta.com>
 17. Huang Tsung-Jen, Hsu Robert Wen-Wei, Li Yen-Yao (2005). Cheng Chin-Chang, Less systemic cytokine response in patients following microendoscopic versus open lumbar discectomy. *Journal of orthopaedic research* 23(2):406-411
 18. Jo K, Derin R, Li M, Bredt DS. (1999). Characterization of MALS/Velis-1, -2, and -3: a family of mammalian LIN-7 homologs enriched at brain synapses in association with the postsynaptic density-95/NMDA receptor postsynaptic complex. *J Neurosci*. 19(11):4189-99.
 19. Kiecolt-Glaser J.K., Glaser R (1993). Mind and Immunity, *Mind/Body Medicine*. (pp.39-59)
 20. Martin Angele and Eugen Faist (2002). Clinical review: Immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Critical Care* 6:298-305
 21. Martin Angele, Irshad Chaudry (2005). Surgical trauma and Immunosuppression pathophysiology and potential immunomodulatory approaches. *Langenbecks Arch Sugery* 390:333-341
 22. Maruszynsk M., Pojda Z., (1995) Interleukin 6 (IL-6) levels in the monitoring of surgical trauma. *Surgical Endoscopy* 9(8):865-938
 23. Menger Michael, Vollmar Brigitte (2004) Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression?, *Langenbeck's Archives of Surgery* 389(6):475-484(10)
 24. Mireskandari A, Reid RL, Kashanchi F, Dittmer J, Li WB, Brady JN (1996). Isolation of a cDNA clone, TRX encoding a human T-cell lymphotropic virus type-I Tax1 binding protein. *Biochim Biophys Acta* 1306(1):9-13.
 25. Mokart D, Capo C, Blache JL, Delperro J (2002). Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer. *Br J Surg* 89(11):1450-1456
 26. Moto Kashiwabara, Masao Miyashita, Tsutomu Nomura, Hiroshi Makino (2007). Surgical Trauma-Induced Adrenal Insufficiency is Associated with Postoperative Inflammatory Responses. *J Nippon Med Sch*. 74 (4):274-83

27. Reynaud C, Fabre S, Jalinot P (2000). The PDZ protein TIP-1 interacts with the Rho effector rho-kinase and is involved in Rho signaling to the serum response element. *J Biol Chem* 275(43):33962-8.
28. Roland Prondzinsky, Axel Knüpfel, Harald Loppnow (2005). Surgical trauma affects the proinflammatory status after cardiac surgery to a higher degree than cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 129:760-766
29. Shenkin A, Fraser WD, Series J, Winstanley FP, McCartney AC, Burns HJ, Van Damme (1989). The serum interleukin 6 level response to elective surgery. *Lymphokine Res* 8:123-127
30. Sternfeld DC, Ogle CK (1997). Thermal injury functionally alters bone marrow derived macrophages. *J Burn Care Rehabilitation* 18(6):505
31. Takashi Kawasaki, Masanon Ogata et al(2001). Surgical Stress induces Endotoxin hyporesponsiveness and early decrease of monocyte mCD14 and HLA-DR expression during surgery. *Anesth Analg* 92:1322-6
32. Tang GJ., Kuo CD., et al (1996.) Perioperative plasma concentrations of tumor necrosis factor- α and IL-6 in infected patients. *Crit Care Med* 24:423
33. Tonnesen E, Christensen VB, Toft P (1996). The role of cytokines in cardiac surgery. *Int J Cardiol (suppl 53):*1-10.
34. Withmann, Mattias W (1998). Severe depression of host immune functions following closed bone fracture, soft tissue trauma and hemorrhagic shock. *Critical Care Medicine* 26-8.



50

ГОДИНИ СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ 1959-2009