



В. Д. Шейко, А. Г. Оганезян

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

© Шейко В. Д., Оганезян А. Г.

ВПЛИВ ФАКТОРІВ ВРОДЖЕНОГО ІМУНІТЕТУ НА ВИНИКНЕННЯ ІНФІКОВАНИХ ОБМЕЖЕНИХ РІДИННИХ СКУПЧЕНЬ ПРИ ТЯЖКОМУ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ

Резюме. Проаналізовано результати обстеження та лікування 39 хворих з ОРС при ТГП. Визначено рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β-актину до та після стимуляції лігандом (ліпополісахарид).

У хворих з асептичними ОРС рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові після стимуляції лігандом був в середньому на 40,6 % менше ніж у хворих з інфікованими ОРС ($p < 0,02$). Виявлена позитивна кореляція між частотою підвищення рівня експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові після стимуляції лігандом та випадками розвитку інфікованих ОРС у хворих на ТГП ($r = 0,76$).

У хворих, які потребували некрсеквестректомії після ПДС, середній рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові після стимуляції лігандом був на 83,5 % вищим ніж у хворих з остаточною ПДС під УЗ контролем. У хворих з рівнем експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β-актину після стимуляції лігандом вище 1,0 достовірно частіше ($p < 0,05$) була необхідність виконання некрсеквестректомії після ПДС ніж у хворих з рівнем експресії гену TLR-4 менше 1,0.

Ключові слова: *тяжкий гострий панкреатит, обмежені рідинні скупчення, Toll-подібний рецептор.*

Вступ

Проблема діагностики й лікування гострого панкреатиту та його ускладнень є однією з найбільш складних в абдомінальній хірургії. У 15-25 % хворих розвивається тяжкий гострий панкреатит (ТГП) з формуванням гострих рідинних скупчень у 30-60 % випадків, а летальність від ускладнень становить 25-60 % [2, 3, 4]. За даними різних авторів на долю гнійних ускладнень серед причин смерті хворих припадає 57-80 % [1, 2, 6]. Основними збудниками панкреатичної інфекції є грамнегативні бактерії. Протягом останніх десятиріч у центрі уваги імунологів було вивчення механізмів набутого (адаптивного) імунітету. Механізми природженого імунітету (наприклад, функції макрофагів та нейтрофілів) також вивчались, але їх розглядали окремо від адаптивного імунітету. Останнім часом все більше підтвердження отримує гіпотеза К. Janeway про виключну важливість системи природженого імунітету в захисті від патогенів та в реалізації початкових стадій реакцій адаптивного імунітету [5, 7]. Саме остання продукує цитокіни, які не тільки викликають запальну реакцію, а й активують Т- та В-клітини, що приймають участь в адаптивній відповіді. Література останніх років сконцентрована на Toll-подібних рецепторах (TLR), які характери-

зуються як головний елемент розпізнання «чужого» системою клітин природженого імунітету організму господаря. TLR здатні активуватись різними лігандами, які є структурними компонентами бактерій, вірусів та ін. та, активуючись, підвищують синтез прозапальних цитокінів, простагландинів, хемокінів, які запускають механізм запальної відповіді. Зокрема, TLR-4 активується ліпополісахаридом, який є фрагментом грамнегативних бактерій.

НДР: «Прогнозування та профілактика ускладнень при гострій абдомінальній хірургічній патології» (№ держреєстрації: 0111 У 006299).

Мета роботи

Вивчення системи TLR-4 при обмежених рідинних скупченнях (ОРС) у хворих на ТГП та розробка прогностичних та діагностичних критеріїв розвитку інфікованих ОРС.

Матеріали та методи досліджень

Проаналізовано результати обстеження та лікування 39 хворих з ОРС при ТГП, які знаходились на лікуванні в хірургічному відділенні Полтавської обласної клінічної лікарні в період з 2009 року по березень 2013 року. Чоловіків було 24 (61,5 %), жінок – 15 (38,5 %). Вік

хворих варіював від 25 до 74 років. Тяжкість стану хворих оцінювали за шкалою APACHE II. В дослідження включені хворі з ТГП та з індексом тяжкості ≥ 8 балів за APACHE II.

Хворим проводилось повне клініко-лабораторне обстеження за загальноприйнятими методиками. УЗД виконували при госпіталізації в комплексі діагностичних заходів та в подальшому кожні 1-3 доби на ультразвуковому сканері Logiq C 5 (General Electric, США). Комп'ютерна томографія виконувалась на спіральному комп'ютерному томографі «Somatom Emotion» (Siemens, Німеччина).

Проведено дослідження зв'язку між рівнем експресії гену TLR-4 та випадками виникнення інфікованих OPC, а також ефективністю пункційно-дренуючих санацій (ПДС). Визначали рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину до та після стимуляції лігандом (ліпополісахарид) методом Real-time PCR з використанням специфічних праймерів [8].

Результати досліджень та їх обговорення

У 10 (25,6 %) хворих рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом був вище 1,0. Серед них у 8 (80 %) хворих мали місце інфіковані OPC, у 2 (20 %) хворих – асептичні OPC. У 29 хворих рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом був менше 1,0. При цьому у 16 (55,2 %) хворих мали місце інфіковані OPC, у 13 (44,8 %) хворих – асептичні OPC (табл. 1).

Таблиця 1

Клінічні особливості у хворих з OPC при ТГП в залежності від рівня експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові

Клінічні особливості		Рівень експресії гену TLR-4 більше 1,0 n = 10	Рівень експресії гену TLR-4 менше 1,0 n = 29	p
Інфіковані OPC	так ні	8 2	16 13	<0,02

У хворих з асептичними OPC рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом був в середньому на 40,6 % менше ніж у хворих з інфікованими OPC ($p < 0,02$). Виявлена позитивна кореляція між частотою підвищення рівня експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові після стимуляції лігандом та випадками розвитку інфікованих OPC у хворих на ТГП ($r = 0,76$).

ПДС виявилась остаточною у 50 % хворих з рівнем експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом

вище 1,0, інші 50 % хворих потребували виконання некрсеквестректомії. В групі хворих з рівнем експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом менше 1,0 у 84,6 % ПДС мала кінцевий лікувальний вплив, 15,4 % хворих потребували виконання некрсеквестректомії.

У хворих, які потребували некрсеквестректомії після ПДС, середній рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом був на 83,5 % вищим ніж у хворих з остаточною ПДС під УЗ контролем. У хворих з рівнем експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом вище 1,0 достовірно частіше ($p < 0,05$) була необхідність виконання некрсеквестректомії після ПДС ніж у хворих з рівнем експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові менше 1,0 (табл. 2).

Таблиця 2

Ефективність ПДС у хворих з OPC при ТГП в залежності від рівня експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові

Ефективність ПДС		Експресія гену TLR-4 більше 1,0 n = 8	Експресія гену TLR-4 менше 1,0 n = 26	p
ПДС ефективна	так ні	4 4	22 4	<0,05

Виявлена кореляція між випадками підвищення експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину після стимуляції лігандом на випадками неефективності ПДС ($r = 0,72$).

При зустрічі з патогенами через TLR відбувається передача активаційного сигналу до синтезу цитокінів [3, 4]. Підвищення рівня експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові після стимуляції лігандом є ознакою підвищення функції TLR-4. Підвищення функції TLR-4 призводить до посилення цього шляху активації клітин, зсуву балансу в бік активації синтезу прозапальних цитокінів з «надагресивним» імунологічним захистом (пов'язаним з кількісно-якісними змінами рівнів цитокінів), який підтримує аутодеструктивний процес.

Висновки

Підвищений рівень експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові після стимуляції лігандом може свідчити про генетично детермінований високий ризик інфікування OPC.

Показник рівня експресії гену TLR-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові по відношенню до β -актину є інформативним критерієм для прогнозування ефективності ПДС.



ЛІТЕРАТУРА

1. Застосування пункційно-дренуючих втручань під ультразвуковим контролем в лікуванні гострого некротичного панкреатиту / О. І. Дронов, І. О. Ковальська, С. І. Пахолок, Т. В. Лубенець // Український журнал хірургії. – 2009. – № 5. – С. 87–89.
2. Кондратенко П. Г. Острый панкреатит / П. Г. Кондратенко, А. А. Васильев, М. В. Конькова. Донецк : Новий мир. – 2008. – 352 с.
3. Кондратенко П. Г. Ультразвуковые критерии миниинвазивных вмешательств при остром панкреатите / П. Г. Кондратенко, М. В. Конькова // Клінічна хірургія. – 2009. – № 7-8. – С. 68-70.
4. Оганезян А. Г. Возможности мініінвазивних технологій при лікуванні обмежених рідинних скупчень у хворих на тяжкий гострий панкреатит / А. Г. Оганезян // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2011. – Т.11, випуск 2 (34). – С. 178-180.
5. О'Нилл Л. Врожденный иммунитет: система раннего оповещения / Л. О'Нилл // В мире науки. – 2005. – № 4. – С. 32-39.
6. Keim V. Diagnosis and treatment of acute pancreatitis / V. Keim // Z Gastroenterology. – 2005. – Vol. 5. – P. 461-466.
7. Montero Vega M. T. The significance of toll-like receptors in human diseases / M. T. Montero Vega, A. de Andres Martin // Alergol. Immunopathol. (Madr.). – 2009. – Vol. 37. – № 5. – P. 252-263.
8. Relationship between the TLR2 and TLR4 Gene Polymorphisms with a Predisposition to Certain Urogenital Infections / O. V. Izmailova, O. A. Shlykova, N. O. Bobrova, I. P. Kaidashev // Cytology and Genetics. – 2011. – Vol. 45, № 4. – P. 225-230.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ
ВРОЖДЕННОГО
ИММУНИТЕТА НА
ВОЗНИКНОВЕНИЕ
ИНФИЦИРОВАННЫХ
ОТГРАНИЧЕННЫХ
ЖИДКОСТНЫХ
СКОПЛЕНИЙ ПРИ
ТЯЖЕЛОМ ОСТРОМ
ПАНКРЕАТИТЕ

В. Д. Шейко, А. Г. Оганезян

Резюме. Проанализированы результаты обследования и лечения 39 больных с ограниченными жидкостными скоплениями при тяжелом остром панкреатите. Определяли уровень экспрессии гена TLR-4 мононуклеарными клетками периферической крови по отношению к β -актину до и после стимуляции лигандом (липополисахарид).

У больных с асептическими ограниченными жидкостными скоплениями уровень экспрессии гена TLR-4 мононуклеарными клетками периферической крови после стимуляции лигандом был в среднем на 40,6 % меньше чем у больных с инфицированными ограниченными жидкостными скоплениями ($p < 0,02$). Виявлена положительная корреляция между частотой повышения уровня экспрессии гена TLR-4 мононуклеарными клетками периферической крови после стимуляции лигандом и случаями развития инфицированных ограниченных жидкостных скоплений у больных с тяжелым острым панкреатитом ($r = 0,76$).

У больных, которые нуждались в некрсеквестрэктомии после пункционно-дренирующей санации, средний уровень экспрессии гена TLR-4 мононуклеарными клетками периферической крови после стимуляции лигандом был на 83,5 % выше чем у больных с окончательной пункционно-дренирующей санацией по УЗ контролем. У больных с уровнем экспрессии гена TLR-4 мононуклеарными клетками периферической крови по отношению к β -актину после стимуляции лигандом выше 1,0 достоверно чаще ($p < 0,05$) была необходимость выполнения некрсеквестрэктомии после пункционно-дренирующей санации чем у больных с уровнем экспрессии гена TLR-4 ниже 1,0.

Ключевые слова: *тяжелый острый панкреатит, ограниченные жидкостные скопления, Toll-подобный рецептор.*

IMPACT OF INNATE
IMMUNITY FOR THE
GENESIS OF INFECTED
SEPARATE FLUID
COLLECTIONS IN SEVERE
ACUTE PANCREATITIS

V. D. Sheyko, A. G. Oganeyan

Summary. The results of diagnostics and treatment of 39 patients with separate fluid collections in time of severe acute pancreatitis were analyzed. It was determined the expression level of the gene TLR-4 in peripheral blood mononuclear cells relative to β -actin before and after stimulation with ligand (lipopolysaccharide).

In patients with aseptic separate fluid collections the expression level of the gene TLR-4 in peripheral blood mononuclear cells relative to β -actin after stimulation with ligand was on average 40,6 % less than in patients infected with separate fluid collections ($p < 0,02$). The positive correlation between the frequency increase of gene expression of TLR-4 in peripheral blood mononuclear cells after stimulation with ligand and cases of infected patients with separate fluid collections in time of severe acute pancreatitis was determined ($r = 0,76$).

In patients who required necrosectomy after puncture-draining sanations, the average expression level of the gene TLR-4 in peripheral blood mononuclear cells relative to β -actin after stimulation with ligand was by 83,5 % higher than in patients with the final puncture-draining sanations under ultrasound control. In patients with the level of expression of the gene TLR-4 in peripheral blood mononuclear cells relative to β -actin after stimulation with ligand above 1.0 significantly more ($p < 0,05$) was the need to perform after necrosectomy puncture-draining sanations than in patients with the level of expression of the gene TLR-4 peripheral blood mononuclear cells less than 1.0.

Key words: *severe acute pancreatitis, separate fluid collections, Toll-like receptor.*