

УДК 617.55–002.3–089.168:616–008.8

## РІВЕНЬ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНА TLR—4 МОНОНУКЛЕАРАМИ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ ЗА ВИСОКОГО РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ГНІЙНО—ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЙ З ПРИВОДУ ГОСТРИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ОРГАНІВ ЧЕРЕВНОЇ ПОРОЖНИНИ

В. Д. Шейко, Д. А. Ситнік, Р. А. Прихідько, О. А. Шкурупій, О. А. Шликова,  
О. В. Ізмайлова

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

## THE EXPRESSION OF TLR—4 GENE MONONUCLEAR CELLS PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS BY HIGH RISK OF PURULENT—INFLAMMATORY COMPLICATIONS AFTER SURGERY FOR ACUTE DISEASES OF THE ABDOMINAL ORGANS

V. D. Sheyko, D. A. Sytnik, R. A. Pryhidko, O. A. Shkurupiy, O. A. Shlykova, O. V. Izmailova

**Н**а сучасному етапі розвитку абдомінальної хірургії проблема діагностики й лікування гнійно—запальних ускладнень (ГЗУ) після первинної санації черевної порожнини посідає особливе місце. Поряд з удосконаленням хірургічної техніки, розширенням показань до виконання хірургічних втручань та збільшенням їх обсягу, ГЗУ є найбільш частою причиною здійснення релапаротомії [1 — 3]. ГЗУ становлять 48,6 — 77,2% в структурі всіх ускладнень і є причиною смерті 47 — 89% хірургічних хворих [4 — 6]. Особливого значення ця проблема набуває у пацієнтів похилого і старечого віку, оперованих у невідкладному порядку на тлі декомпенсації супутніх захворювань [5, 7, 8]. Першочерговим завданням при лікуванні пацієнтів з приводу ГЗ ОЧП є раннє прогнозування та попередження виникнення ГЗУ. В умовах лавиноподібно прогресуючої інтоксикації при ГЗУ відбувається активація експресії гена TLR—4 грамнегативною мікрофлорою, мононуклеарними клітинами периферійної крові [9 — 12]. Вивчення експресії гена TLR—4 при ГЗУ дозволить оптимізувати діагностичну та лікувальну тактику.

Мета дослідження: вивчити рівень експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної

### Реферат

Визначений рівень експресії гена TLR—4 мононуклеарами периферійної крові у 77 пацієнтів, оперованих з приводу гострих захворювань органів черевної порожнини (ГЗ ОЧП) у 1—шу та на 4—ту добу після втручання. Встановлені динамічні зміни рівня експресії гена TLR—4. Несприятливий перебіг раннього післяопераційного періоду у пацієнтів за початково високого і середнього ризику виникнення гнійно—септичних ускладнень супроводжувався активацією експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові.

**Ключові слова:** гострі захворювання органів черевної порожнини; гнійно—септичні ускладнення; рівень експресії гена TLR—4.

### Abstract

The specified level of gene expression TLR—4 in peripheral blood mononuclear cells in 77 patients operated on acute diseases of the abdominal organs in the 1st and the 4th day after surgery was determined. Established dynamic changes of gene expression TLR—4. Adverse course early postoperative period in patients initially high and medium risk of purulent—septic complications was accompanied by activation of gene expression TLR—4 in peripheral blood mononuclear cells.

**Key words:** acute diseases of the abdominal organs; purulent—septic complications; the expression of TLR—4 gene level.

крові після операції з приводу ГЗ ОЧП і оцінити його значення при прогнозуванні виникнення ГЗУ.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Рівень експресії гена TLR—4 до і після стимуляції лігандом визначали у 77 хворих. Досліджений зв'язок між рівнем експресії гена TLR—4 і частотою виникнення ГЗУ після хірургічного лікування пацієнтів з приводу ГЗ ОЧП за середнього та високого ризику виникнення ГЗУ з використанням оригінального спосо-

бу [13]. У 36 (46,8%) хворих (1—ша група) відзначений високий ризик виникнення ГЗУ після первинної санації черевної порожнини з приводу ГЗ ОЧП, у 41 (53,2%) хворого (2—га група) — середній ступінь ризику. Для порівняння динаміки рівня експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові щодо β—актину дослідження проводили у 1—шу та на 4—ту добу після операції (строки максимального прояву симптомів інтраабдомінальних інфекційних ускладнень та декомпенсації супутніх захворювань).

Для визначення рівня експресії гена TLR—4 виділяли загальну РНК з суспензії мононуклеарів периферійної крові до та через 24 год після стимуляції ліпополісахаридів за допомогою реагентів "РИБО—золь—В" (AmpliSens, Росія). Для отримання кДНК в реакції оберненої транскрипції використовували праймер оліго(dT)18 та обернену транскриптазу M—MuLV (SibEnzyme, Росія). Аналізували експресію генів TLR—4 методом ланцюгової реакції з полімеразою (ЛРП) в режимі реального часу з використанням детектувального ампліфікатора ДТ—322 ("ДНК—Технологія", Росія) в присутності барвника SYBR Green I, шляхом відносного кількісного аналізу. Для ЛРП використовували праймери (SibEnzyme, Росія). Як референтний використовували ген  $\beta$ —актину. Для аналізу даних застосовували відносний Ct метод з обчисленням за формулою:  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  [4].

У дослідження включені хворі, у яких ГЗ ОЧП ускладнилося перитонітом, що потребувало в невідкладному порядку усунення джерела перитоніту та санації черевної порожнини, віком від 18 до 93 років, у середньому ( $53 \pm 0,97$ ) року. У дослідження не включали пацієнтів, які померли внаслідок декомпенсації тяжких супутніх захворювань та формування тяжкої поліорганної недостатності у найближчому післяопераційному періоді (протягом 1—3 діб).

Чоловіків було 43 (55,8%), жінок — 34 (44,2%). Пацієнти обох груп за статтю, віком, етіологічним чинником основного захворювання, причинами, виникнення ГЗУ, тяжкістю стану, що оцінювали за шкалою APACHE II, показниками Мангеймського індексу перитоніту, були зіставні [14].

## ЛІТЕРАТУРА

1. Гаин Ю. М. Проблема абдоминального сепсиса в хирургии: диагностика, оценка тяжести, прогнозирование / Ю. М. Гаин, С. А. Алексеев, В. Г. Богдан // Белорус. мед. журн. — 2003. — № 2. — С. 18 — 21.
2. Каминский И. В. Послеоперационный перитонит / И. В. Каминский, Н. Н. Торотадзе // Клін. хірургія. — 2008. — № 11—12. — С. 43.
3. Миниинвазивные методы лечения гнойно—воспалительных послеоперационных осложнений у больных при разлитом перитоните / В. И. Лупальцов, А. И. Ягнюк, Р. С. Ворошук, И. А. Дехтярук // Там же. — 2012. — № 10. — С. 5 — 7.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У першу добу після первинної санації у 32 (41,6%) хворих рівень експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові щодо  $\beta$ —актину після стимуляції лігандом перевищував 1,0, в тому числі у 28 (87,5%) — 1—ї групи, у 4 (12,5%) — 2—ї групи. У 45 (58,4%) хворих цей показник був менше 1,0, в тому числі у 8 (17,8%) — 1—ї групи, у 37 (82,2%) — 2—ї групи. За високого ризику виникнення ГЗУ рівень експресії гена TLR—4 після стимуляції лігандом був у 28 разів вище, ніж у здорових донорів; за середнього ризику — суттєво не збільшувався у порівнянні з таким у здорових донорів.

Період максимального прояву симптомів ГЗУ та декомпенсації супутніх захворювань, які спостерігали при аналізі хворих ретроспективної групи, переважно на 3—5—ту добу після первинного оперативного втручання з приводу ГЗ ОЧП, визначені як "контрольний період". Саме у цей період проводили основну частину діагностичних заходів.

На 4—ту добу після первинної санації черевної порожнини у 1—ї групі, незважаючи на проведену адекватне лікування, ГЗУ виникли у 32 (88,9%) хворих, у 4 (11,1%) — ГЗУ не спостерігали.

У 2—ї групі ГЗУ виникли у 23 (56,1%) хворих, у 18 (43,9%) — ГЗУ не спостерігали.

У цей період відзначали суттєві зміни рівня експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові.

Аналізуючи кількісні показники рівня експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові, слід відзначити, що у пацієнтів 1—ї групи при виникненні ГЗУ частота експресії гена TLR—4

суттєво збільшилася — до 95% у порівнянні з такою у здорових донорів; за відсутності ГЗУ рівень експресії гена TLR—4 відповідав такому у донорів.

У 2—ї групі при виникненні на 4—ту добу ГЗУ спостерігали збільшення показника до 95%. За сприятливого перебігу післяопераційного періоду — він відповідав такому у здорових донорів.

Встановлений позитивний кореляційний зв'язок між частотою підвищення рівня експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові після стимуляції лігандом та частотою формування ГЗУ у пацієнтів, оперованих з приводу ГЗ ОЧП ( $r = 0,86$ ).

Підвищення рівня експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові після стимуляції лігандом може свідчити про генетично детермінований високий ризик виникнення ГЗУ.

## ВИСНОВКИ

1. Дослідження експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові в динаміці після хірургічного втручання з приводу ГЗ ОЧП дозволяє оцінити адекватність проведеного лікування та індивідуалізувати вибір лікувальної тактики.

2. Активация експресії гена TLR—4 мононуклеарними клітинами периферійної крові може бути використана як критерій прогнозування несприятливого перебігу післяопераційного періоду у хворих за високого та середнього ризику виникнення ГЗУ і дозволяє своєчасно коригувати тактику їх лікування.

8. Recognition of commensal microflora by TLRs is required for intestinal homeostasis / S. Rakoff—Nahoum, J. Paglino, F. Eslami—Varzaneh [et al.] // *Cell*. — 2004. — Vol. 118. — P. 229 — 241.
9. Должковий С. В. Експресія та поліморфізм tlr—4 у пацієнтів за тяжкої форми гострого панкреатиту / С. В. Должковий // *Клін. хірургія*. — 2012. — № 10 (Додаток). — С. 19.
10. Келина Н. Ю. Изменения гематологических показателей в реактивной стадии разлитого перитонита в ранний послеоперационный период / Н. Ю. Келина, Н. В. Безручко, Е. Р. Кулюци-на // *Вестн. интенсив. терапии*. — 2002. — № 2. — С. 32 — 35.
11. Barber R. C. Characterization of a single nucleotide polymorphism in the lipopolysaccharide binding protein and its association with sepsis / R. C. Barber, G. E. O'Keefe // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. — 2003. — Vol. 167. — P. 1316 — 1320.
12. Moldawer L. L. Emerging evidence of a more complex role for proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in the sepsis response / L. L. Moldawer, R. M. Minter, J. E. Rectenwald // *Multiply organ failure: pathophysiology, prevention, and therapy*; ed. A. E. Baue, E. Faist, D. E. Fry. — N. Y.: Springer—Verlag, 2000. — P. 145 — 154.
13. Пат. 63558 Україна, МПК А61В 5/0205, А61В 10/00. Спосіб прогнозування розвитку післяопераційного перитоніту при гострій абдомінальній патології / В. Д. Шейко, Д. А. Ситнік, Р. А. Прихідько; заявник та патентовласник ВДНЗ "Українська медична стоматологічна академія" (м. Полтава). — № u 201103682; заявл. 28.03.11; опубл. 10.10.11. Бюл. № 19.
14. Linder M.M. Der Mannheimer Peritonitis—Index. An instrument for the intraoperative prognosis of peritonitis / M. M. Linder, H. Washa, U. Feldmann // *Chirurg*. — 1987. — Bd. 58, H. 2. — S. 84 — 92.

