

Зміни показників системи імунітету, медіаторів запалення, фіброзування та каменеутворення в динаміці лікування хворих на хронічний панкреатит

О. О. Крилова

Клініка сучасної хірургії «ГАРВІС», Дніпро, Україна

Ключові слова: хронічний панкреатит, імунна система, літостатин, цитокіни, лікування

Хронічний панкреатит (ХП) — широко розповсюджене захворювання, яке характеризується тривалим перебігом, розвитком тяжких ускладнень, суттєво погіршує якість життя значних верств населення і тому має велику соціальну значущість і потребує фундаментального вивчення патогенетичних механізмів розвитку хвороби [2, 9–11].

У хворих на ХП відзначаються патологічні зміни у багатьох органах та системах, зокрема і в імунній системі, яка відіграє важливу роль в патогенезі захворювання.

Мета роботи. Вивчити стан системи імунітету, рівень медіаторів запалення, фіброзування, каменеутворення та їх динаміку в результаті лікування у хворих на різні форми ХП.

Матеріали та методи. Під спостереженням знаходилось 210 хворих на ХП. Дослідження проведені в ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» (м. Дніпро). Серед обстежених було 169 чоловіків і 41 жінка, вік пацієнтів коливався від 26 до 72 років, середній вік становив $(47,3 \pm 0,7)$ років. Співвідношення жінок і чоловіків — 1:4,1. Відповідно до Марсельсько-Римської класифікації 1998 р. пацієнти були розподілені на 4 клінічні групи: I група — 26 (12,4%) хворих на обструктивну форму ХП, II — 56 (26,7%) пацієнтів з кальцифікуючою формою, III — 78 (34,1%) хворих з фіброзно-паренхіматозною формою, IV — 50 (23,8%) пацієнтів з ХП, ускладненим псевдокістою.

Для вивчення стану імунної системи визначали субпопуляційний склад лімфоцитів за допомогою моноклональних антитіл фірми «Сорбент ТМ» до молекул CD3, CD19, CD4, CD8, CD16, CD25 за допомогою лімфоцитотоксичного тесту (стандартний метод NIH США) з використанням моноклональних антитіл [6, 8]. Гуморальну ланку імунітету (зміна рівнів класів імуноглобулінів IgA, IgM, IgG в сироватці крові) визначали методом радіальної імунодифузії за Mancini (1965) [13]. Мононуклеарні клітини виділяли з периферичної венозної крові пацієнтів в градієнті щільності $1,077$ г/см. Функціональну активність гранулоцитів оцінювали в тесті з нітросинім тетразолам (НСТ-тест) за реакцією відновлення нітросинього тетразола [4]. Циркуючі

імунні комплекси (ЦК) визначали за методом V. Haskova (1977) [12]. Вивчення рівня прозапальних та профібротичних інтерлейкінів TNF- α , IL-10, REG-1 α , TGF- β 1 проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) з застосуванням наборів «Вектор БЕСТ» (м. Новосибірськ) згідно інструкцій до них. Визначення концентрації лактоферину проводили на тест-системах «Лактоферин-стрип» виробництва ЗАО «Вектор-БЕСТ» згідно інструкції виробника. Результати ІФА реєстрували на фотометрі «Stat Fax 303+». Застосовували методи статистичного аналізу.

Результати та обговорення. Порушення імунного статусу виявлено у всіх хворих на ХП. Кількість лейкоцитів у хворих на ХП була достовірно більшою в порівнянні з групою контролю ($p < 0,01$), але не перевищувала загальноприйнятну норму (табл. 1). Активізація запалення, за даними показників лейкоцитів у крові, була у 18,9% хворих. Аналіз цього показника залежно від форми ХП показав, що найчастіше підвищення рівня лейкоцитів визначено у I групі хворих — більш ніж у третини (38,5%), що достовірно вище, ніж в III групі (11,4%, $\chi^2 = 4,26$, $p = 0,039$), але не відрізняється від рівня у II (17,2%) та IV (20,7%) групі (табл. 2).

У всіх хворих відзначали достовірне підвищення загальної кількості лімфоцитів, як абсолютного числа, так і їх відсоткового вмісту (табл. 1, $p < 0,01$), причому незалежно від форми захворювання. У хворих всіх груп виявлено зниження вмісту Т-лімфоцитів (CD3⁺), Т-хелперів (CD4⁺) ($p < 0,01$). Відзначалось підвищення абсолютної кількості цитотоксичних Т-лімфоцитів (CD8⁺) у пацієнтів I, II та IV груп ($p_{1, 2, 4} < 0,01$). Встановлено достовірне підвищення абсолютної кількості натуральних кілерів (CD16⁺) при ХП, але відносна їх кількість не мала значних відхилень від показників групи контролю. У всіх хворих був зниженим індекс імунорегуляції (CD4⁺/CD8⁺), причому більш значно — у пацієнтів III та IV груп ($p < 0,01$).

НСТ-тест характеризує дві основні стадії фагоцитозу — поглинання чужорідних часток та перетравлення — «кисневий вибух». Проведені дослідження НСТ-тесту у хворих на ХП свідчать про функціональну повноцінність нейтрофілів при цьому захворюванні. У всіх хворих встановлена підвищена фагоцитарна активність нейтрофілів — показники неспецифічної резистентності (НСТ) були достовірно вищими від контролю, причому найбільш значне їх підвищення визначалось у II групі хворих в порівнянні з III та IV ($p < 0,002$), що може свідчити про найвищу бактеріальну заселеність, яка приводить до збільшення числа

активованих гранулоцитів, здатних поглинати і відновлювати НСТ (до 30–40%).

Щодо гуморального імунітету — також встановлені значні зміни його показників (табл. 2). Так, про активацію гуморальної ланки імунітету у всіх хворих свідчило значне підвищення рівня ЦІК та маркерів В-лімфоцитів (CD19⁺) ($p < 0,01$), причому достовірних відмін значень цих показників по групах не встановлено. Рівень імуноглобулінів визначали для з'ясування адекватності відповіді імунної системи. Встановлено, що вміст IgG та IgA був підвищеним, причому найбільш значно у хворих II та III груп ($p < 0,01$), а рівень IgM достовірно не відрізнявся від контролю.

Для більш детальної характеристики імунних порушень розраховували коефіцієнт діагностичної цінності, який доз-

воляє з урахуванням середніх величин параметрів у групі, їх дисперсій відібрати показники, відмінні від норми у більшому ступеню і отримати таким чином формулу розладів імунної системи (ФРІС), яка включає в себе три найбільш інформативних показника. Як свідчить ФРІС (табл. 3), у I групі найбільш вагомі відхилення спостерігали за рівнем загальних CD3⁺ Т-лімфоцитів, CD4⁺ Т-лімфоцитів, цитотоксичних CD8⁺ Т-клітин. У II групі найбільш діагностично значущим показником є рівень CD4⁺ Т-лімфоцитів, далі — рівень загальних CD3⁺ Т-лімфоцитів і цитотоксичних CD8⁺ Т-лімфоцитів. У III і IV групах найбільш діагностично значущим показником був рівень CD4⁺ Т-лімфоцитів, далі — рівень загальних CD3⁺ Т-лімфоцитів, індекс імунорегуляції CD4⁺/CD8⁺.

Таблиця 1
Показники клітинного імунітету у хворих на ХП

| Показник | Група | | | | Всього (n = 106) | Контроль (n = 50) |
|--|---------------|---------------|----------------------------|----------------------------|------------------|-------------------|
| | I (n = 13) | II (n = 29) | III (n = 35) | IV (n = 29) | | |
| Лейкоцити, 10 ⁹ /л | 7,42 ± 0,82*# | 6,35 ± 0,44* | 5,65 ± 0,34 | 7,20 ± 0,73* | 6,49 ± 0,28* | 5,35 ± 0,21 |
| Лімфоцити, % | 33,69 ± 3,54 | 33,45 ± 2,09* | 34,77 ± 1,67* | 30,52 ± 1,88 | 32,81 ± 1,07* | 28,71 ± 0,81 |
| Лімфоцити, 10 ⁹ /л | 2,43 ± 0,33* | 2,01 ± 0,15* | 1,89 ± 0,12* | 2,01 ± 0,17* | 2,02 ± 0,08* | 1,61 ± 0,07 |
| CD3 ⁺ , % | 42,31 ± 1,69* | 44,93 ± 2,21* | 44,38 ± 1,70* | 44,07 ± 1,64* | 44,19 ± 0,96* | 50,88 ± 0,68 |
| CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л | 1,06 ± 0,13* | 0,96 ± 0,11 | 0,82 ± 0,06 | 0,89 ± 0,08 | 0,91 ± 0,05* | 0,76 ± 0,04 |
| CD4 ⁺ , % | 27,23 ± 1,13* | 27,97 ± 1,72* | 28,68 ± 1,49* | 26,11 ± 1,13* | 27,62 ± 0,76* | 38,71 ± 0,52 |
| CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,66 ± 0,08 | 0,59 ± 0,08 | 0,54 ± 0,05 | 0,51 ± 0,03 | 0,56 ± 0,03 | 0,53 ± 0,03 |
| CD8 ⁺ , % | 19,15 ± 1,64 | 17,21 ± 1,22 | 17,91 ± 1,31 | 19,30 ± 1,13 | 18,23 ± 0,66 | 18,39 ± 0,57 |
| CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,50 ± 0,07* | 0,37 ± 0,02* | 0,33 ± 0,03 | 0,39 ± 0,04* | 0,38 ± 0,02* | 0,30 ± 0,02 |
| CD16 ⁺ , % | 20,85 ± 2,77 | 19,83 ± 2,38 | 19,74 ± 1,44 | 18,78 ± 1,74 | 19,55 ± 1,04 | 19,07 ± 0,90 |
| CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,48 ± 0,09 | 0,46 ± 0,10 | 0,37 ± 0,04 | 0,37 ± 0,04 | 0,41 ± 0,03* | 0,31 ± 0,02 |
| CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | 1,92 ± 0,25 | 1,82 ± 0,13 | 1,79 ± 0,13* | 1,47 ± 0,08* | 1,73 ± 0,07* | 1,97 ± 0,07 |
| НСТ | 19,92 ± 1,81* | 25,32 ± 1,20* | 14,00 ± 0,83* ¹ | 23,18 ± 5,22* ¹ | 18,43 ± 1,96* | 12,03 ± 0,74 |

Примітки: * — статистично значуща ($p < 0,01$) різниця між показниками хворих у порівнянні зі здоровими людьми; # — статистично значуща ($p < 0,02$) різниця між показниками хворих I та III груп; ¹ — статистично значуща ($p < 0,002$) різниця між показниками хворих II групи у порівнянні з III та IV групами.

Таблиця 2
Показники гуморального імунітету та експресія активаційних рецепторів на лімфоцитах HLA-DR у хворих на ХП

| Показник | Група | | | | Контроль (n = 106) | Всього (n = 50) |
|--|---------------|---------------------------|---------------|---------------|--------------------|-----------------|
| | I (n = 13) | II (n = 29) | III (n = 35) | IV (n = 29) | | |
| CD19 ⁺ , % | 18,85 ± 2,69 | 17,35 ± 1,42 | 20,74 ± 1,29* | 19,52 ± 2,04* | 19,22 ± 0,86 | 14,78 ± 0,48 |
| CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л | 0,51 ± 0,12* | 0,38 ± 0,06* | 0,40 ± 0,04* | 0,38 ± 0,04* | 0,40 ± 0,03* | 0,25 ± 0,01 |
| T/B | 2,83 ± 0,35 | 2,87 ± 0,19 | 2,47 ± 0,19 | 2,75 ± 0,24 | 2,70 ± 0,11 | 2,78 ± 0,15 |
| HLA-DR, % | 20,60 ± 2,26 | 17,89 ± 0,67* | 18,16 ± 0,99* | 26,06 ± 1,25* | 19,69 ± 0,6* | 21,49 ± 0,59 |
| HLA-DR, 10 ⁹ /л | 0,27 ± 0,03 | 0,19 ± 0,02* | 0,21 ± 0,01* | 0,34 ± 0,05 | 0,23 ± 0,01* | 0,33 ± 0,02 |
| ЦІК, од. опт. щіл. | 5,17 ± 0,56* | 4,97 ± 0,54* ⁺ | 7,38 ± 0,56* | 5,66 ± 0,57* | 5,98 ± 0,33* | 3,42 ± 0,23 |
| IgA, г/л | 3,63 ± 0,70 | 3,12 ± 0,26* | 3,02 ± 0,28* | 2,46 ± 0,16 | 3,02 ± 0,16* | 2,25 ± 0,26 |
| IgM, г/л | 1,82 ± 0,24 | 1,65 ± 0,13 | 1,71 ± 0,14 | 1,88 ± 0,19 | 0,73 ± 0,08 | 1,53 ± 0,10 |
| IgG, г/л | 14,60 ± 0,85* | 15,05 ± 0,66* | 14,68 ± 0,69* | 13,78 ± 0,90 | 14,65 ± 0,39* | 12,72 ± 0,42 |

Примітки: * — статистично значуща ($p < 0,01$) різниця між показниками хворих у порівнянні зі здоровими людьми; ⁺ — статистично значуща ($p < 0,02$) різниця між показниками хворих II та III груп.

Таблиця 3
Формула розладів імунної системи в обстежених групах хворих

| Групи хворих | ФРІС | |
|--------------|------------------------------|-------------------------|
| | Клітинний імунітет | Гуморальний імунітет |
| I | CD3 2- , CD4 2- , CD8 1+ | ЦІК 2+, IgG 2+, IgA 1+ |
| II | CD4 2- , CD3 2- , CD8 1+ | ЦІК 2+, IgG 3+, IgA 2+ |
| III | CD4 2- , CD3 2- , CD4/CD8 2- | CD19 3+, ЦІК 3+, IgG 2+ |
| IV | CD4 2- , CD3 2- , CD4/CD8 2- | CD19 3+, ЦІК 2+, IgG 1+ |

Примітки: (+) — гіперфункція; (-) — імунна недостатність; 1 (2, 3) — ступінь імунних розладів.

Аналізуючи показники гуморальної ланки імунітету, встановили, що для всіх досліджених груп хворих характерний підвищений рівень ЦІК (в III групі більш високого, 3-го ступеня). ФРІС у III і IV групах полягає у підвищенні рівня В-лімфоцитів 3-го ступеня. В усіх групах спостерігали гіперпродукцію IgG (в II групі більш високого ступеня). Крім того, в II групі спостерігали гіперпродукцію IgA 2-го ступеня. Отже, отримані нами дані свідчать про активацію гуморальної ланки імунітету і повноцінну імунну відповідь у хворих I і II групи. В III групі імунні розлади значно виражені і повноцінної імунної відповіді ми не визначили. За ФРІС, що характеризує клітинний імунітет, найзначніші відхилення встановлені у хворих III та IV груп, а за гуморальним імунітетом — у II та III групах.

Відомо, що значну роль в розвитку та прогресуванні ХП відіграють інтерлейкіни (запальні та протизапальні) та медіатори фіброзних процесів. Тому важливим було визначити рівень інтерлейкінів — запального TNF- α , про-

тизапального — IL-10, маркеру фіброзування — TGF- β 1. В результаті проведеного дослідження відзначені достовірні відмінності рівня цитокінів у сироватці крові у хворих на ХП по відношенню до показників групи контролю (табл. 4). Було відзначено підвищення здатності клітин до продукції основних прозапальних цитокінів: TNF- α , рівень якого був достовірно підвищеним у всіх хворих, причому в I та IV групах встановлено достовірно більш значне його підвищення, ніж в II та III групах ($p < 0,05$).

Рівень продукції протизапального цитокіну IL-10 був підвищеним у всіх хворих, найбільш значно — у пацієнтів IV групи ($p < 0,001$), що свідчило про напруженість імунітету та дисбаланс в цитокіновій ланці імунної системи. Рівень продукції TGF- β 1 також був достовірно високим у всіх групах хворих в порівнянні з контролем ($p < 0,001$). Крім протизапальної активності, TGF- β 1 є потужним профіброгенним фактором. Він може блокувати запальну реакцію, одночасно розторможуючи синтез колагену та забезпечуючи ремоделювання позаклітинного матриксу.

Таблиця 4
Характеристика рівня медіаторів запалення та маркерів фіброгенезу в хворих на ХП

| Група | TNF- α , пг/мл | IL-10, пг/мл | TGF- β 1, нг/мл |
|-------------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| I (n = 9) | 197,33 \pm 2,21* | 31,32 \pm 0,32* | 23,50 \pm 0,64* [£] |
| II (n = 37) | 174,34 \pm 12,16* ⁺ | 30,41 \pm 0,41* | 29,06 \pm 0,55* |
| III (n = 32) | 178,78 \pm 1,88* ¹ | 31,67 \pm 0,68* | 27,62 \pm 0,56* |
| IV (n = 17) | 194,44 \pm 2,62* | 42,08 \pm 0,94* [#] | 21,16 \pm 0,67* [£] |
| Всього (n = 95) | 185,84 \pm 2,61* | 33,01 \pm 0,54* | 26,50 \pm 0,44* |
| Контроль (n = 20) | 22,00 \pm 0,81 | 28,60 \pm 1,83 | 3,46 \pm 0,07 |

Примітки: * — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками у хворих порівняно зі здоровими людьми; ⁺ — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками хворих II групи в порівнянні з I, IV групами; ¹ — статистично значуща ($p < 0,05$) різниця між показниками хворих III групи в порівнянні з I, IV групами; [£] — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками хворих I та IV груп в порівнянні з II, III групами; [#] — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками хворих IV групи в порівнянні з II групою.

Слід відзначити, що при міжгруповому аналізі визначено, що рівень профіброгенного цитокіну TGF- β 1 був достовірно вищим в II та III групах хворих, що свідчить про найвищу активність фіброзних процесів в паренхімі підшлункової залози (ПЗ) пацієнтів цих груп ($p < 0,001$). TGF- β 1 — відіграє основну роль у фіброгенезі ПЗ, він стимулює ріст клітин мезенхімального походження і посилює синтез протеїнів екстрацелюлярного матриксу, таких як колаген, фібронектин і протеоглікани.

Порушення цитокінової регуляції імунної системи у пацієнтів з ХП свідчить про наявність вторинної імунної недостатності, яка сприяє персистуванню запального процесу в ПЗ. Підвищення цитокінопродукуючої здатності імуннокомпетентних клітин відповідало активності захворювання за даними клінічного, біохімічного та інструментального обстеження хворих на ХП. Звертає на себе увагу той факт, що у багатьох хворих зміни продукції прозапальних і протизапальних цитокінів носять різноспрямований характер.

Про участь літостатину (REG-1 α) та лактоферину у процесах кальцифікації та утворення конкрементів в протоках ПЗ свідчать дані багатьох дослідників [1, 7, 14, 15]. Специфічний білок «панкреатичних каменів» — pancreatic stone protein (PSP, або літостатин) становить 5% усього секретованого ацинусами протеїну і пригнічує ріст кристалів кар-

бонату кальцію. Лактоферин, навпроти, є основою «панкреатичних каменів», що утворюються за рахунок абсорбції його білковими преципітатами.

Нами було вивчено вміст цих показників в крові хворих на різні форми ХП. Результати дослідження представлені у таблиці 5.

Таблиця 5

Характеристика маркерів панкреатолітазу та рівня рецепторів апоптозу в хворих на ХП

| Група | Літостатин (REG-1 α), пг/мл | Лактоферин, нг/мл | CD95 ⁺ | |
|-------------------|--|-------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | | | абс. ч. | % |
| I (n = 9) | 1183,22 \pm 70,69 ^{*x} | 17669,44 \pm 841,39 [*] | 0,31 \pm 0,06 | 15,89 \pm 1,36 |
| II (n = 37) | 983,86 \pm 8,83 [*] | 17461,892 \pm 261,18 [*] | 0,27 \pm 0,03 | 15,08 \pm 0,83 [*] |
| III (n = 32) | 1779,91 \pm 109,86 ^{*!#} | 7305,72 \pm 40,74 ^{**} | 0,24 \pm 0,02 [*] | 15,78 \pm 0,43 [*] |
| IV (n = 17) | 2256,94 \pm 57,79 ^{**} | 7218,88 \pm 51,45 ^{**} | 0,27 \pm 0,03 [*] | 19,06 \pm 1,05 |
| Всього (n = 95) | 1498,71 \pm 63,80 [*] | 12227,57 \pm 542,29 [*] | 0,26 \pm 0,02 [*] | 16,11 \pm 0,45 |
| Контроль (n = 20) | 185,0 \pm 23,0 | 653,57 \pm 11,89 | 0,24 \pm 0,02 | 17,24 \pm 0,57 |

Примітки: * — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками у хворих у порівнянні зі здоровими людьми; # — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками хворих III та IV груп в порівнянні з I, II групами; x — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками хворих I та II груп; ! — статистично значуща ($p < 0,001$) різниця між показниками хворих III та IV груп.

Відомо, що істотне значення в патогенезі панкреатиту має процес апоптозу — запрограмованої та регульованої смерті клітин. При посиленні апоптозу розвивається некроз, тобто посилюється аутоліз ПЗ. При ослабленні апоптозу генетично ушкодженим клітинам надається можливість проліферації, що веде до гіперплазії, а потім до пухлинної трансформації. Нами встановлено, що вміст рецептору апоптозу CD95⁺ відзначався різноспрямованими змінами. Так, якщо у хворих IV групи рівень його був декілька підвищеним відносно групи порівняння, то в I, II та III групах вміст його був зниженим, причому в двох останніх — достовірно ($p < 0,01$).

Як видно з таблиці 5, для всіх хворих на ХП характерно значне підвищення рівня літостатину (REG-1 α) в 8,7 рази ($p < 0,001$). Літостатин є одним із стабілізаторів кальцію, тобто він підтримує кальцій у розчинному стані. Головна роль літостатину пов'язана з інгібуванням енуклеації, агрегації і виникнення солей кальцію. Підвищення рівня літостатину у хворих на ХП, ймовірно, є протектор-

ною реакцією для перешкоди утворенню каменів в протоках та кальцифікатів в паренхімі ПЗ.

Однак, при міжгруповому аналізі встановлено, що у хворих I та II груп його рівень достовірно нижчий, ніж у пацієнтів III та IV груп — в 1,5 і 1,9 та 1,8 і 2,3 рази, відповідно ($p < 0,001$). Найбільш зниженим рівень цього показника був у хворих II групи, що свідчило про найнижчу його захисну дію утворенню конкрементів в протоках та кальцифікатів паренхіми у пацієнтів з кальцифікуючою формою ХП.

Для іншого учасника каменеутворення — лактоферину — характерними були такі ж зміни: значне підвищення його вмісту в сироватці крові всіх хворих в 18,7 рази ($p < 0,001$); більш зачне у хворих I та II груп порівняно з пацієнтами III та IV груп в однаковій пропорції — в 2,4 рази ($p < 0,001$).

Для співставлення залежності маркерів фіброзу та каменеутворення, які визначені у різних одиницях виміру, нами розраховані коефіцієнти значень цих показників відносно контролю та їх співвідношення (контрольні значення вивчених показників брали за 1,0) (табл. 6).

Таблиця 6

Коефіцієнти співвідношень показників каменеутворення та фіброзу в хворих на ХП

| Коефіцієнт | Група | | | | Контроль (n = 20) |
|--------------------------------|------------|-------------|--------------|-------------|----------------------|
| | I (n = 12) | II (n = 33) | III (n = 42) | IV (n = 33) | |
| REG-1 α | 6,4 | 5,3 | 9,9 | 12,2 | 1,0 |
| Лактоферин | 27,0 | 26,7 | 11,2 | 11,0 | 1,0 |
| TGF- β 1 | 6,8 | 8,4 | 8,0 | 6,1 | 1,0 |
| REG-1 α / лактоферин | 0,2 | 0,2 | 0,9 | 2,0 | 1,0 |
| REG-1 α /TGF- β 1 | 0,9 | 0,6 | 1,2 | 2,0 | 1,0 |

Як видно з таблиці 6, показники каменеутворення найбільш значно були зміненими у хворих I та II груп. Так, у цих хворих рівень літостатину (REG-1 α) був майже в 2 рази нижчим, а лактоферину — майже в 2 рази вищим, ніж у пацієнтів III та IV груп. Маркер фіброзу та його активатор (TGF- β 1)

був найбільш зміненим у хворих II та III груп, хоча достовірної різниці з показниками хворих I та IV груп не встановлено.

При визначенні співвідношення між маркерами каменеутворення REG-1 α /лактоферин (коефіцієнт кальцифікації) встановлено, що найменше значення його характерне для

I та II групи (0,2), у яких виявлені кальцинати проток/кальцифікати паренхіми. В III групі хворих коефіцієнт кальцифікації становив 0,9, тобто наближався до 1,0, що може бути показником ймовірності каменеутворення. А в IV групі хворих значення коефіцієнту було 2,0, тобто ймовірність каменеутворення у пацієнтів цієї групи низька.

При визначенні співвідношень між маркерами каменеутворення та фіброзування встановлено, що за коефіцієнтом REG-1 α /TGF- β 1 про наявність каменів свідчать значення його, нижчі 1,0. Причому, більш високі його значення у хворих I групи (від 0,6 до 1,0) можуть вказувати на наявність кальцинату в головній панкреатичній протоці, а нижчі 0,6, які встановлені у пацієнтів II групи — на кальцифікати паренхіми. При значеннях цього коефіцієнту незначно вищих за 1,0 (III група — 1,2) кальцифікатів та кальцинатів не встановлено, але є висока ймовірність їх утворення. У хворих IV групи, у яких коефіцієнт становить 2,0, ймовірність кальцифікації та утворення кальцинатів в протоках низька.

Таким чином, у всіх хворих на ХП в результаті проведеного дослідження встановлено порушення регуляторної, проліферативної та активаційної функцій системи імунітету, що призводить до розладу в цитокиновій ланці імунітету і, як наслідок, до поглиблення запального та фіброзного процесів, активації каменеутворення.

Аналіз кореляційних зв'язків підтвердив значимість порушень імунної системи в розвитку та перебігу ХП. Найбільшу кількість кореляційних зв'язків визначено між показниками імунної системи та біохімічними маркерами фіброзування (оксипролін білковопов'язаний — $r = 0,63$; $p = 0,002$, гексозаміни — $r = 0,71$; $p = 0,007$), ендогенної інтоксикації (молекули середньої маси — $r = 0,84$; $p = 0,001$), перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту ($r = 0,68$; $p = 0,001$), холестерину ($r = 0,76$; $p = 0,0001$), метаболічних порушень (Са — $r = 0,95$; $p = 0,0008$), що підтверджувало взаємовплив імунних факторів, показників оксидативного стресу, холестерину у хворих на ХП. В II групі хворих кореляційними зв'язками підтверджена участь протизапальних цитокинів (IL-10) та лактоферину в розвитку кальцифі-

катів паренхіми ПЗ за даними ультразвукового дослідження ($r = -0,82$; $p = 0,005$ і $r = 0,59$; $p = 0,044$, відповідно).

Результати лікування хворих на ХП вивчено в терміні від 6 до 12 місяців. Для вивчення ефективності запропонованого лікування хворі були розподілені на дві групи: I — 34 хворих основної групи і II — 25 хворих групи порівняння. Базисне лікування ХП проводилося відповідно стандартів [5]. Крім того, для нормалізації рівня прозапальних та профібротичних цитокинів та корекції стану системи імунітету застосовували аутоцитокінотерапію у вигляді 3-сеансного підшкірного введення аутоцитокінів, утворених мононуклеарними клітинами периферичної крові хворого, які отримані каскадною стимуляцією. Курс аутоцитокінотерапії призначали на 14–16 день перебування хворого у клініці (в підгострий період захворювання), сеанси проводили з інтервалами 3–5 днів, доза аутоцитокінів — 100 мкг/мл. Для обмеження оксидативного стресу та зниження рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів, покращення стану системи антиоксидантного захисту та нормалізації метаболізму колагену хворим на ХП призначали глутаргін по 3 таблетки (0,75 г) три рази на добу протягом 15–21 днів. Для купіювання хронічного больового синдрому застосовували вихрове імпульсне магнітне поле (ВІМП) із впливом на проєкцію ПЗ та біологічно активні точки по 5–15 хвилин курсом 10–15 сеансів. ВІМП активізує захисні механізми організму за рахунок покращення мікроциркуляції, нормалізації реологічних властивостей крові, порушень біохімічних показників та системи імунітету, змін швидкості передачі нервових імпульсів. ВІМП застосовували через 8–10 днів від початку лікування (в період затихаючого загострення). Тривалість лікування становила 3–4 тижня до повної нормалізації клінічних даних, зниження рівня показників запалення, зникнення нейтрального жиру, крохмалю й м'язових волокон у калі [3].

Аналіз динаміки змін імунних показників у вивчених групах хворих після проведеного лікування показав позитивні зміни рівня цитокинів, відповідних за активацію зірчастих клітин ПЗ, регуляцію фіброзоутворення та каменеутворення (табл. 7).

Таблиця 7

Зміни рівня показників пускових механізмів патології при ХП в обстежених хворих після лікування

| Показник | До лікування (n = 12) | Після лікування (n = 12) | Норма |
|-------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------|
| IL-10, пг/мл | 30,57 \pm 1,47 | 29,36 \pm 0,87 | 28,60 \pm 1,83 |
| TNF- α , пг/мл | 302,43 \pm 117,64 | 177,89 \pm 110,51 | 2,20 \pm 0,81 |
| Лактоферин, нг/мл | 17458,35 \pm 846,91 | 7167,68 \pm 1599,15** | 653,57 \pm 11,89 |
| Літостатин (REG-1 α , пг/мл) | 2143,17 \pm 87,29 | 1179,83 \pm 99,51** | 185,0 \pm 23,0 |
| TGF- β 1, нг/мл | 39,34 \pm 8,05 | 22,12 \pm 3,37* | 3,46 \pm 0,07 |
| Еластаза калу, мкг/г | 156,50 \pm 12,73 | 198,60 \pm 11,39* | 200,0 |

Примітки: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$ — достовірність відмін до і після лікування.

Так, при аналізі цих показників через рік після лікування встановлено, що у пацієнтів спостерігається достовірне зниження вмісту лактоферину у сироватці крові з (17458,35 \pm 846,91) нг/мл до (7167,68 \pm 1599,15) нг/мл ($p < 0,001$); літостатину (REG-1 α) — з (2143,17 \pm 87,29) пг/мл до (1179,83 \pm 99,51) пг/мл ($p < 0,001$); активатора фіброзу TGF-1 β — з (39,34 \pm 8,05) нг/мл до (22,12 \pm 3,37) нг/мл ($p < 0,05$). Рівень еластази калу, показника зовнішньосекреторної недостатно-

сті ПЗ, достовірно підвищився ($p < 0,05$) і у 75% пацієнтів був у межах норми.

Ці зміни відбувались на фоні покращення всіх ланок імунітету у хворих основної групи: гуморальної, клітинної, регуляційної (табл. 8). Результати аналізу показали, що після лікування абсолютне число Т-клітин у 100,0% хворих основної групи нормалізувалося ($p < 0,05$). Достовірно підвищилась відносна кількість Т-хелперів ($p < 0,05$).

Відзначено достовірне зниження відносної кількості Т-супресорів ($p < 0,05$), так що після лікування їх рівень не відрізнявся від контрольної групи. Вищезазначені зміни

привели до відновлення імунорегуляторного індексу $CD4^+/CD8^+$, який після лікування не відрізнявся від групи контролю ($p > 0,05$).

Таблиця 8
Показники імунного статусу у хворих після лікування

| Показник | Група контролю (n = 20) | I група (n = 34) | | II група (n = 25) | |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | до лікування | після лікування | до лікування | після лікування |
| Лейкоцити, $10^9/\text{л}$ | $5,35 \pm 0,21$ | $6,98 \pm 0,68^*$ | $5,89 \pm 0,39$ | $6,87 \pm 0,72^*$ | $6,63 \pm 0,81$ |
| Лімфоцити, % | $28,71 \pm 0,81$ | $33,73 \pm 1,73^*$ | $29,58 \pm 2,65$ | $34,20 \pm 1,76^*$ | $34,70 \pm 2,03^*$ |
| Лімфоцити, $10^9/\text{л}$ | $1,61 \pm 0,07$ | $2,32 \pm 0,29^*$ | $2,17 \pm 0,22^*$ | $2,34 \pm 0,31^*$ | $2,19 \pm 0,27^*$ |
| $CD3^+$, % | $50,88 \pm 0,68$ | $41,07 \pm 1,46^{**}$ | $49,25 \pm 1,51^+$ | $40,84 \pm 1,51^{**}$ | $39,87 \pm 1,74^{**}$ |
| $CD3^+$, $10^9/\text{л}$ | $0,76 \pm 0,04$ | $0,95 \pm 0,08^*$ | $0,84 \pm 0,09$ | $0,96 \pm 0,09^*$ | $0,87 \pm 0,08$ |
| $CD19^+$, % | $14,78 \pm 0,48$ | $21,34 \pm 1,64^*$ | $15,67 \pm 1,70^+$ | $21,09 \pm 1,72^*$ | $16,30 \pm 1,49^+$ |
| $CD19^+$, $10^9/\text{л}$ | $0,25 \pm 0,01$ | $0,36 \pm 0,04^*$ | $0,33 \pm 0,05$ | $0,39 \pm 0,03^{**}$ | $0,34 \pm 0,06$ |
| $CD4^+$, % | $38,71 \pm 0,52$ | $28,38 \pm 1,73^{**}$ | $36,08 \pm 0,87^+$ | $29,14 \pm 1,81^{**}$ | $27,30 \pm 1,07^\#$ |
| $CD4^+$, $10^9/\text{л}$ | $0,53 \pm 0,03$ | $0,53 \pm 0,09$ | $0,52 \pm 0,05$ | $0,54 \pm 0,09$ | $0,56 \pm 0,08$ |
| $CD8^+$, % | $18,39 \pm 0,57$ | $26,46 \pm 1,75^{**}$ | $18,05 \pm 1,32^+$ | $27,07 \pm 1,64^{**}$ | $24,94 \pm 1,72^{**}$ |
| $CD8^+$, $10^9/\text{л}$ | $0,30 \pm 0,02$ | $0,42 \pm 0,06$ | $0,32 \pm 0,08$ | $0,43 \pm 0,07$ | $0,39 \pm 0,08$ |
| $CD16^+$, % | $19,07 \pm 0,90$ | $19,08 \pm 1,81$ | $18,83 \pm 1,33$ | $19,11 \pm 1,76$ | $21,42 \pm 1,36$ |
| $CD16^+$, $10^9/\text{л}$ | $0,31 \pm 0,02$ | $0,43 \pm 0,07$ | $0,35 \pm 0,08$ | $0,44 \pm 0,07$ | $0,41 \pm 0,08$ |
| $CD95^+$, % | $17,24 \pm 0,57$ | $15,08 \pm 0,83^*$ | $16,94 \pm 0,67$ | $14,97 \pm 0,93^*$ | $15,01 \pm 0,97$ |
| $CD95^+$, $10^9/\text{л}$ | $0,24 \pm 0,02$ | $0,27 \pm 0,03$ | $0,24 \pm 0,04$ | $0,28 \pm 0,04$ | $0,27 \pm 0,03$ |
| T/B | $2,78 \pm 0,15$ | $2,75 \pm 0,18$ | $2,77 \pm 0,28$ | $2,67 \pm 0,23$ | $2,48 \pm 0,94$ |
| $CD4^+/CD8^+$ | $1,97 \pm 0,07$ | $1,56 \pm 0,12^*$ | $1,89 \pm 0,23$ | $1,54 \pm 0,21$ | $1,52 \pm 0,87$ |
| ЦІК, од. опт. щіл. | $3,42 \pm 0,23$ | $6,94 \pm 0,28^\#$ | $2,99 \pm 0,31^+$ | $6,76 \pm 0,3^\#1$ | $4,02 \pm 1,08^+$ |
| HCT | $12,03 \pm 0,74$ | $19,82 \pm 3,26^*$ | $12,56 \pm 2,35$ | $20,01 \pm 2,94^*$ | $16,27 \pm 1,56^*$ |

Примітки: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, # — $p < 0,001$ — достовірність відмін порівняно з контролем; + — $p < 0,05$ — достовірність відмін до і після лікування.

У 41,6% випадків підвищений рівень В-клітин після лікування в основній групі знизився ($p < 0,05$), що привело до нормалізації цього показника у всій групі. В основній групі хворих після лікування відзначено нормалізацію НСТ та ЦІК ($p < 0,05$), що свідчить про нормалізацію функціональної активності нейтрофілів та фагоцитарної ланки імунітету.

В групі порівняння не відзначалось таких позитивних змін всіх ланок імунітету (гуморальної, клітинної, регуляторної), як у хворих основної групи.

Відзначена нормалізація відносної кількості В-клітин ($CD19^+$) та рівня ЦІК ($p < 0,05$). Інші показники достовірно після лікування не змінилися, а головне — не відзначено позитивних змін у відновленні імунорегуляції.

Таким чином, у пацієнтів з ХП після комплексного лікування з застосуванням аутоцитокінів, глутаргіну та ВІМІ не відзначено повного відновлення імунної системи, що пояснюється важливим значенням її в хронізації і прогресуванні ХП. У той же час показник $TGF-\beta 1$, який свідчить про розвиток фібротичних процесів, активізує зірчасті клітини ПЗ, що продукують екстрацелюлярний матрикс та відповідають за фіброзування паренхіми залози, достовірно знижувався ($p < 0,05$), а рівень цитокінів, що побічно мають відношення до процесів фіброзу — $IL-10$, $TNF-\alpha$ — мав тенденцію до зниження ($p > 0,05$). Встановлено позитивний вплив лікування на процеси кальцифікації — достовірно знизився рівень $REG-1\alpha$ (літостатину), який є основною складовою панкреатичних каменів ($p < 0,001$).

Таким чином, у всіх хворих на ХП в результаті проведеного дослідження встановлено порушення регуляторної, проліферативної та активаційної функцій системи імунітету, що призводить до розладу в цитокиновій ланці імунітету і, як наслідок, до поглиблення запального та фіброзного процесів, активації каменеутворення. Проведене лікування з застосуванням аутоцитокінів дозволило одержати позитивний ефект у більшості хворих за рахунок покращення стану імунної системи, достовірного зниження рівня показників фіброзування та кальцифікації.

Література:

1. Губергриц Н. Б. Клиническая панкреатология / Н. Б. Губергриц, Т. Н. Христинич. — Донецк : ООО Лебедь, 2000. — 416 с.
2. Губергриц Н. Б. Практическая панкреатология / Н. Б. Губергриц. — М. : 4ТЕ АРТ, 2008. — 319 с.
3. Ефективність аутоцитокінів, глутаргіну та вихрового імпульсного магнітного поля в лікуванні хворих на хронічний панкреатит / О. О. Крилова, В. М. Ратчик, В. Є. Кудрявцева [та ін.]. — Вестник Клуба панкреатологов. — 2015. — № 3. — С. 29–37.
4. Иммунология. Методы исследований / Под ред. И. Лефковитса, Б. Пернуса. — М. : Мир, 1983. — С. 188–212.
5. Клиническая гастроэнтерология : протоколы диагностики и лечения / Т. И. Бойко, Н. Г. Гравировская, Т. В. Майкова [и др.]. — Днепрпетровск : Журфонд, 2003. — 299 с.

6. Лимфоцитотоксический тест как метод идентификации субпопуляций Т-лимфоцитов моноклональными антителами / А. М. Сочнер, И. Е. Бельченко, А. М. Бурштейн [и др.] // *Лабора. дело.* — 1989. — № 3. — С. 29–32.
7. Маев И. В. Литостатин: современный взгляд на биологическую роль и патогенез хронического панкреатита / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* — 2006. — № 5. — С. 4–9.
8. Оценка иммунного статуса человека при массовых исследованиях. Методические рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения / Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, В. В. Пинегин [и др.] // *Иммунология.* — 1992. — № 6. — С. 51–63.
9. Хронический панкреатит и факторы, определяющие его развитие / Н. А. Жуков, В. А. Ахмедов, Н. В. Ширинская, Е. Н. Жукова // *Терапевт. арх.* — 2003. — № 2. — С. 73–77.
10. Цитокиновый статус при хроническом панкреатите алкогольной и билиарной этиологии / Л. В. Винокурова, Н. С. Живаева, Т. М. Царегородцева, Т. И. Серова // *Терапевт. арх.* — 2006. — № 2. — С. 57–60.
11. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy / H. Witt, M. V. Apte, V. Keim [et al.] // *Gastroenterology.* — 2007. — Vol. 132, No 4. — P. 1557–1573.
12. Haskova V. Simple method of circulating immune complex detection in human sera polyethylene glycol precipitation / V. Haskova, J. Kaslik, J. Riha [et al.] // *J. Immunol.* — 1978. — Vol. 154, No 4. — P. 399–406.
13. Mancini G. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion / G. Mancini, A. O. Carbonara, J. F. Heremans // *Immunochemistry.* — 1965. — Vol. 2. — P. 235–254.
14. Pancreatic lithostathine as a calcite habit modifier / S. Geider, A. Baronnet, C. Cerini [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 1966. — Vol. 271, No 42. — P. 2632–2636.
15. Paulo J. A. Proteomic analysis of a rat pancreatic stellate cell line using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) / J. A. Paulo, R. Urrutia, P. A. Banks // *J. Proteomics.* — 2011. — Vol. 75. — P. 708–717.

УДК 616.37-002+576.8.097.3/616-003.7+616-006.327.08

UA **Зміни показників системи імунітету, медіаторів запалення, фіброзування та каменеутворення в динаміці лікування хворих на хронічний панкреатит**

О. О. Крылова

Клініка сучасної хірургії «ГАРВІС», Дніпро, Україна

Ключові слова: хронічний панкреатит, імунна система, літостатин, цитокіни, лікування

Вивчено стан системи імунітету, рівень інтерлейкінів (запального TNF- α , протизапального — IL-10, маркеру фіброзування — TGF- β 1), літостатину (REG-1 α) та лактоферину в хворих на різні форми хронічного панкреатиту. У всіх хворих встановлено порушення регуляторної, проліферативної та активаційної функцій системи імунітету, що призводить до розладу в цитокиновій ланці імунітету і, як наслідок,

до поглиблення запального та фіброзного процесів, активації каменеутворення. Проведене лікування з застосуванням аутоцитокінів дозволило одержати позитивний ефект у більшості хворих за рахунок покращення стану імунної системи, достовірного зниження рівня показників фіброзування та кальцифікації.

УДК 616.37-002+576.8.097.3/616-003.7+616-006.327.08

RU **Изменения показателей иммунитета, медиаторов воспаления, фиброзирования и камнеобразования в динамике лечения больных хроническим панкреатитом**

О. А. Крылова

Клиника современной хирургии «ГАРВИС», Днепр, Украина

Ключевые слова: хронический панкреатит, иммунная система, литостатин, цитокины, лечение

Изучено состояние системы иммунитета, уровень интерлейкинов (воспалительного TNF- α , противовоспалительного — IL-10, маркера фиброзирования — TGF- β 1), литостатина (REG-1 α) и лактоферрина у больных различными формами хронического панкреатита. У всех больных выявлены нарушения регуляторной, пролиферативной и активационной функций системы иммунитета, что приводит к расстройству в цитокиновом звене иммунитета и, как следствие, углублению воспалительного и фиброзного процессов, активации камнеобразования. Проведенное лечение с применением аутоцитокінів дозволило получить положительный эффект у большинства больных за счет улучшения состояния иммунной системы, достоверного снижения уровня показателей фиброзирования и кальцификации.

EN **Changes in the immune system, inflammatory mediators of fibrosis and stone formation in the dynamics of treatment of patients with chronic pancreatitis**

О. А. Krylova

Clinic of modern surgery «GARVIS», Dnipro, Ukraine

Key words: chronic pancreatitis, immune system, litostatin, cytokines, treatment

Indicators of immune system, the level of interleukins (inflammatory TNF- α , antiinflammatory — IL-10, a marker of fibrosis — TGF- β 1), litostatin (REG-1 α) and lactoferrin were studied in patients with different forms of chronic pancreatitis. Violation of regulatory, proliferative and activation functions of the immune system was found in all the patients, which led to an imbalance in cytokine mediated immunity and, as a result, aggravating inflammatory and fibrotic processes, activation of stone formation. There was a positive response in most patients for given treatment with autocytoines due to the improved immune system, significantly reduced level of indicators of fibrosis and calcification.