



Л. В. Тропко,  
О. М. Бабій,  
В. Є. Кудрявцева,  
О. М. Татарчук,  
Б. Ф. Шевченко

ДУ «Інститут  
гастроентерології НАМН  
України», м. Дніпропетровськ

© Колектив авторів

## ІМУНОЛОГІЧНА РЕАКТИВНІСТЬ У ХВОРИХ З УСКЛАДНЕННЯМИ ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ ЗАЛЕЖНО ВІД БАКТЕРІАЛЬНОГО ЗАСЕЛЕННЯ КІСТ ТА ГОЛОВНОЇ ПАНКРЕАТИЧНОЇ ПРОТОКИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

**Резюме.** У статті вивчено вплив мікробної контамінації вмісту псевдокісти та головного панкреатичного протоки підшлункової залози на зміни показників імунологічної реактивності у хворих з ускладненим хронічним панкреатитом.

**Ключові слова:** імунологічна реактивність, ускладнений хронічний панкреатит, бактеріальний вміст кіст та панкреатичної протоки підшлункової залози.

### Вступ

Хронічний панкреатит (ХП) — це хронічний запально-дегенеративний процес, кінцевою стадією якого є фіброз паренхіми підшлункової залози (ПЗ) з подальшим зниженням зовнішньо- та внутрішньосекреторної функцій. Захворювання розвивається поступово, рідко є наслідком гострого панкреатиту, може бути первинним, якщо процес відбувається первинно в ацинарній тканині ПЗ, але частіше буває вторинним, на фоні інших причин. Здебільшого причиною розвитку ХП є тривалі захворювання органів травлення, насамперед гастродуоденальної та гепатобіліарної систем. Велике значення мають аліментарні порушення: систематичний дефіцит у їжі білків і вітамінів, нерегулярне харчування, часте вживання гострої та жирної їжі. Безперечно значення у розвитку ХП мають бактеріальні та вірусні інфекції, наприклад, епідемічний паротит, вітряна віспа, грип, група ентеровірусних захворювань, кишкові інфекції, тощо, а також алергічні захворювання та ендокринні порушення, які супроводжуються гіперліпопротеїнемією, гіперкальціємією. Трапляються і спадкові форми ХП, які проявляються з раннього дитинства. Інколи етіологія ХП залишається нез'ясованою [9, 8, 10].

Сучасні дослідження свідчать, що більшість ідентифікованих при розвитку панкреатичної інфекції бактерій — ентерального походження: *E. coli* — 24 %, *Klebsiella* spp. — 13 %, *Pseudomonas* spp. — 12 %, *Proteus* spp. — 6 %, *Enterococcus faecalis* — 8 %, *Staphylococcus aureus* — 13 %, *Streptococcus* spp. — 9 %, *Bacteroides fragilis* — 6 %, *Candida albicans* — 5 %. Виділяють три основні механізми, що сприяють бактеріальній транслокації: 1) порушення проникності слизової оболонки кишки внаслідок ушкодження епітеліального бар'єру; 2) збільшення числа бактерій у кишечнику (колонізація кишечника і його парез); 3) порушення загального й місцевого імунітету. Шляхами поширення ін-

фекції є пряма транслокація мікроорганізмів з кишечника, гематогенний, лімфогенний перенос з віддалених вогнищ інфекції та висхідний дуктогенний шлях із дванадцятипалої кишки і загальної жовчної протоки [6].

Хронічні захворювання ПЗ супроводжуються порушеннями клітинного і гуморального імунітету, ступінь вираження яких залежить від етіології, форми ураження та активності патологічного процесу.

Одним з інтегральних показників імунної системи є визначення кількісного вмісту лімфоцитів у периферичній крові — абсолютного та відносного. Нерідко хронічні захворювання ПЗ супроводжуються лімфопенією. Зниження числа циркулюючих лімфоцитів спостерігається переважно при кістах ПЗ.

Як відомо, при антигенному впливі на організм з боку імунної системи виникає інтегрована відповідь за допомогою двох відносно автономних систем лімфоцитів: Т-лімфоцити реалізують реакції клітинного імунітету, гуморальна імунна відповідь здійснюється за безпосередньою участю В-лімфоцитів [2].

Важливу роль у розвитку панкреатиту, як у будь-якому запальному процесі, відіграють цитокіни. Активації цитокінового каскаду сприяє також підвищена проникність кишкової стінки для грамнегативних бактерій, бактероїдів та їх ендотоксину (специфічного ліпополісахариду). Ліпополісахарид безпосередньо пошкоджує ацинарні клітини, збільшує ендотоксемію, дисбаланс між про- та протизапальними цитокінами, бере участь в активації апоптозу, активує зірчасті клітини, фактор росту TGF  $\beta$ 1. Усе це призводить до збільшення альтерації паренхіми ПЗ, системних проявів панкреатиту, а у перспективі — до посилення продукції колагену та фіброзу ПЗ [7].

Таким чином, як зазначено вище, механізми розвитку ускладнень ХП (УХП) вивчені недостатньо. Роль бактеріальної інфекції, ступінь участі та впливу на фактори, що призводять



до розвитку ускладнень та характер імунологічної відповіді організму хворого до кінця нез'ясовані.

### Мета дослідження

З'ясування впливу мікробної контамінації вмісту псевдокісти (ПК) та головної панкреатичної протоки (ГПП) ПЗ на зміни показників імунологічної реактивності у хворих з УХП.

### Матеріали та методи досліджень

Імунологічні та мікробіологічні дослідження вмісту кісти ПЗ та ГПП проводили у хворих з УХП. Загальна кількість досліджень дорівнювала 41 (n = 26 вмісту кісти ПЗ, n=15 – ГПП ПЗ). Чоловіків було 33 (80,5 %), а жінок – 8 (19,5 %). Вік пацієнтів коливався від 29 до 65 років та в середньому складав (42,5±3,5) роки. Хворі знаходились на обстеженні та лікуванні у відділенні хірургії органів травлення ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» з 2008 по 2013 р.р. Усім хворим були виконані дренажні ПК та/або ГПП ПЗ оперативні втручання.

При проведенні бактеріологічних досліджень використовували диференційно-діагностичні поживні середовища: щільні – Ендо, 5 % кров'яний агар Чистовича, Ентерокоагар; рідкі – середовище для контролю стерильності. На щільні поживні середовища посів дослідженого матеріалу проводили за методом Голда (метод секторних посівів). Подальшу ідентифікацію виділених проводили на підставі Наказу № 535 МОЗ СРСР «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (1985) [1]. Визначення наявності анаеробів проводили на середовищі для контролю стерильності. Для цього 1 мл клінічного матеріалу вводили в 9 мл середовища (розведення 1 : 10), інкубували за t – 37° С до 5 діб. За наявності росту (помутніння середовища у пробірці) робили мазки, забарвлювали їх за методом Грама, проводили подальшу ідентифікацію.

Матеріалом для дослідження імунологічних показників служила венозна кров, яку забирали з ліктьової вени в об'ємі 30 мл вранці натщесерце. Мононуклеарні клітини виділяли із периферичної венозної крові пацієнтів в градієнті щільності 1,077 г/см<sup>3</sup> [3]. Субпопуляційний склад лімфоцитів визначали за допомогою лімфоцитотоксичного тесту (стандартний метод NIH США) з використанням моноклональних антитіл фірми «Сорбент ТМ» до маркерів CD3, CD4, CD8, CD16, CD22 [4, 5]. Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) визначали за методом V. Haskova (1977) [11].

Вміст TGF-β1 визначали імуоферментним методом тест-набором фірми «Bender MedSystems», Австрія. Кількісне визначення концентрації IL-6, IL-10, TNF-α в сироватці крові проводили за допомогою ІФА з використанням тест-систем ЗАО «Вектор-бест» (м. Новосибирськ) за рекомендаціями виробника.

ІФА виконували за допомогою імуоферментного аналізатору «Stat Fax 303 Plus» (США), на якому проводили вимірювання оптичної щільності при довжині хвилі 450 нм.

Статистична обробка результатів досліджень здійснювалася методами варіаційної статистики, реалізованими стандартним пакетом прикладних програм Statistica for Windows 6.0.

### Результати дослідження та їх обговорення

Мікробіологічний аналіз вмісту ПК ПЗ (n = 26) та вмісту ГПП ПЗ (n =15) у хворих з УХП показав, що мікробна контамінація була виявлена у 12 (46,2 %) зразках вмісту ПК ПЗ та у 9 (60,0 %) – вмісту ГПП ПЗ (табл. 1).

Аналіз отриманих даних показав, що кількість інфікованих зразків вмісту ГПП ПЗ була значною та на 20,0 % перевищувала кількість стерильних проб, крім того, і частота виявлення мікроорганізмів у вмісту ГПП була на 13,8 % більше, ніж у вмісту ПК ПЗ.

Досліджений клінічний матеріал відрізнявся і за характером мікробної контамінації (табл. 2).

Таблиця 1

Частота виявлення стерильних та інфікованих зразків у вмісту ПК та ГПП ПЗ хворих з УХП

Клінічний матеріал	Загальна кількість проб	Кількість стерильних зразків		Кількість інфікованих зразків	
		абс.	%	абс.	%
Вміст ПК ПЗ	26	14	53,8	12	46,2
Вміст ГПП ПЗ	15	6	40,0	9	60,0

Таблиця 2

Характер та частота виявлення мікробної контамінації у вмісту ПК ПЗ та ГПП ПЗ хворих з УХП

Клінічний матеріал	Характер мікробної контамінації, (%)		Характер інфекції, (%)		
	Монокультура	Асоціація	Аеробна	Анаеробна	Змішана
Вміст ПК ПЗ	66,7	33,3	58,3	8,4	33,3
Вміст ГПП ПЗ	33,3	66,7	33,3	11,1	55,6

Так, у вмісту ПК ПЗ домінувало виявлення монокультури (66,7%), а у вмісту ГПП ПЗ – асоціація мікроорганізмів (66,7%). Аналізуючи якісний та кількісний склад виділених мікроорганізмів отримали наступні відмінності. Так, у вмісту ПК ПЗ переважали аероби (у 58,3 % зразках), які, головним чином, були представлені грамнегативними паличками родів *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus* та грампозитивними коками – *Staphylococcus*,

*Streptococcus*. У вмісту ГПП ПЗ домінувала змішана мікрофлора (у 55,6 % зразків).

Загальною для бактеріологічного аналізу вмісту ПК та ГПП ПЗ були характеристика розподілу якісного складу виділених мікроорганізмів. Так, за частотою виділення переважали грамнегативні палички, які склали 75,0 % у вмісту ПК ПЗ та 77,8 % — у вмісту ГПП ПЗ, домінуючим було виділення ентеробактерії роду *Klebsiella* (частота висівання у вмісту ПК ПЗ складала 50,0 %, у вмісту ГПП — 44,4 %). Другим за частотою виділення був анаеробний мікроорганізм роду *Bacteroides* (33,3 % і 44,4 % відповідно). До переліку інших ідентифікованих мікроорганізмів належали *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, гемолітичний стрептокок та анаероби: *Peptostreptococcus*, *Veilonella*. Концентрація (ступінь обсіменіння) коливалася від  $10^4$  КУО/мл (колонієутворюючих одиниць в 1 мл) до  $10^6$  КУО/мл і лише в одному випадку сягала  $10^7$  КУО/мл.

При аналізі складу лімфоцитів Т-клітинний дефіцит мали практично усі пацієнти, незалежно від наявності мікробної контамінації у вмісту ПК ПЗ та ГПП ПЗ (табл. 3).

Так, спостерігалась достовірно знижена відносна кількість CD3+ клітин: до  $(42,78 \pm 1,61) \%$  — у хворих із стерильним вмістом ПК та ГПП ПЗ та до  $(42,42 \pm 1,02) \%$ , ( $p < 0,01$ ) — у хворих з наявністю мікробної контамінації; у хво-

рих із стерильним вмістом відзначали достовірне зменшення відносної кількості лімфоцитів з фенотипом CD4+ до  $(28,41 \pm 1,79) \%$ , ( $p < 0,01$ ). У хворих із мікробною контамінацією зразків встановлено достовірне зниження відносної та абсолютної кількості Т-хелперів до  $(26,45 \pm 0,71) \%$  та до  $(0,43 \pm 0,03) 10^9/л$  — відповідно, Т-супресорів (CD8+) — до  $(16,27 \pm 0,88) \%$ , ( $p < 0,05$ ), індекс CD4+/CD8+. У хворих із стерильним вмістом ПК та ГПП ПЗ встановлено тенденцію до зниження кількості CD8+ лімфоцитів. Встановлено достовірне зниження кількості клітин із фенотипом CD22+ у хворих з УХП з мікробною контамінацією ПК та ГПП ПЗ ( $p < 0,05$ ) в порівнянні їх рівню у хворих із стерильним вмістом.

Встановлено, що CD16+ (Т-кілери) здатні знешкоджувати інфіковані клітини. Роль цих лімфоцитів полягає також в регуляції клітинної імунної відповіді, посиленні фагоцитозу. Разом з тим, за результатами нашого дослідження для хворих, які мали бактеріальну контамінацію досліджених зразків характерно зниження кількості цих клітин, ( $p < 0,05$ ) відносно контрольної групи. Це вказує на недостатню активність CD16+ (Т-кілери) у хворих з УХП із мікробною контамінацією ПК та ГПП ПЗ, що несприятливо впливає на перебіг інфекційного процесу.

Встановлено достовірне підвищення рівня ЦІК у хворих із мікробною контамінацією порівняно з контролем та з хворими із стериль-

Таблиця 3

Імунологічні показники у хворих з УХП, (M±m)

Показники	Хворі з УХП із стерильним вмістом ПК та ГПП ПЗ (n=20)	Хворі з УХП із мікробною контамінацією вмісту ПК та ГПП ПЗ (n=21)	Контрольна група (n=15)	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>	p <sub>3</sub>
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	5,86±0,45	6,21±0,58	5,35±0,21			
Лімфоцити, %	34,2±2,11	28,23±2,75	28,71±0,81			
Лімфоцити, 10 <sup>9</sup> /л	1,92±0,15	1,58±0,12	1,61±0,07			
CD3+, %	42,78±1,61	42,42±1,02	50,88±0,68	p<0,01	p<0,01	
CD3+, 10 <sup>9</sup> /л	0,77±0,08	0,67±0,05	0,76±0,04			
CD22+, %	16,59±1,6	12,95±0,87	14,78±0,48			p<0,05
CD22+, 10 <sup>9</sup> /л	0,31±0,04	0,22±0,02	0,25±0,01			p<0,05
CD4+, %	28,41±1,79	26,45±0,71	38,71±0,52	p<0,01	p<0,01	
CD4+, 10 <sup>9</sup> /л	0,54±0,07	0,43±0,03	0,53±0,03		p<0,05	
CD8+, %	16,0±1,18	16,27±0,88	18,39±0,57		p<0,05	
CD8+, 10 <sup>9</sup> /л	0,31±0,04	0,26±0,02	0,30±0,02			
CD16+, %	18,69±2,63	16,29±1,31	19,07±0,90			
CD16+, 10 <sup>9</sup> /л	0,28±0,04	0,25±0,02	0,31±0,02		p<0,05	
CD4+/CD8+	1,92±0,18	1,75±0,11	1,97±0,07			
ЦІК, од. опт. щіл.	3,48±0,43	5,64±0,95	2,25±0,26		p<0,05	p<0,05
IL-6, пг/мл	25,26±7,12	41,98±13,48	9,7±2,24	p<0,05	p<0,05	
IL-10, пг/мл	17,25±2,93	19,47±3,51	28,6±1,83	p<0,05	p<0,05	
TNF-α, пг/мл	23,21±5,13	65,83±19,73	2,20±0,81	p<0,01	p<0,01	p<0,05
TGF β1, пг/мл	21497±3246	27227±4853	8525,5±2218,5	p<0,01	p<0,01	

Примітки: p<sub>1</sub> — достовірність відмін хворих з УХП із стерильним вмістом ПК та ГПП ПЗ порівняно з контрольною групою; p<sub>2</sub> — достовірність відмін хворих з УХП із мікробною контамінацією вмісту ПК та ГПП ПЗ порівняно з контрольною групою; p<sub>3</sub> — достовірність відмін між показниками у хворих з УХП із стерильним вмістом та з мікробною контамінацією вмісту ПК та ГПП ПЗ.



ним вмістом ПК і ГПП ПЗ, ( $p < 0,05$ ), що може викликати ланцюг реакцій, які спричиняють виникнення тканинних ушкоджень.

Важливу роль у розвитку УХП, як у будь-якому запальному процесі, відіграють цитокини. Рівень прозапальних цитокинів був достовірно підвищеним у всіх хворих в порівнянні з контрольною групою, незалежно від наявності або відсутності мікроорганізмів у досліджених рідинах. Так, у групі хворих з стерильним вмістом ПК та ГПП ПЗ рівень IL-6 був підвищеним в 2,6 рази, рівень TNF- $\alpha$  – в 10,6 рази, а в групі хворих з контамінацією ПК та ГПП ПЗ рівень прозапальних цитокинів був значно вищим – IL-6 – в 4,3 рази, а TNF- $\alpha$  – в 29,9 рази. Достовірно підвищеним був і рівень TGF- $\beta 1$  – в 2,5 та в 3,2 рази відповідно. Середні значення прозапальних цитокинів достовірно перевищували контрольні показники та віддзеркалювали напруженість запальних реакцій в обстежених хворих.

Рівень IL-10, який гальмує проліферативну відповідь Т-клітин на антигени, в обох групах хворих був у межах норми. При дисбалансі про- та протизапальних медіаторів у бік перших, запалення, у т. ч. при панкреатиті, поси-

люється. Цей дисбаланс збільшує ризик УХП, тому що медіатори запалення викликають як місцеві, так і системні ефекти.

### Висновки

1. За даними мікробіологічних досліджень частота бактеріальної контамінації вмісту ПК ПЗ у хворих з УХП дорівнювала 46,2 %, вмісту ГПП ПЗ – 60,0 %. Вміст ГПП та ПК ПЗ відрізнялися за характером мікробної контамінації та були подібними за розподілом по якісному складу. Концентрація мікроорганізмів у досліджених зразках коливалася від  $10^4$  до  $10^6$  КУО/мл.

2. У хворих з УХП, які мали стерильний вміст ПК та ГПП ПЗ, встановлена недостатня активність клітинної ланки імунного захисту, активація прозапальної ланки імунітету на фоні відсутності адекватного гальмування протизапальних цитокинів.

3. У хворих з УХП, які мали мікробну контамінацію вмісту ПК та ГПП ПЗ, виявлено зниження Т- та В-клітинної ланки імунітету, підвищення рівня ЦІК, високий рівень прозапальних цитокинів (IL-6, TNF- $\alpha$ ), низька активність протизапального медіатору IL-10, що асоціюється з несприятливим прогнозом перебігу УХП.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Бактеріологія та вірусологія: зб. нормат. док. / упоряд. та голов. ред. В. М. Заболотко. — К. : МНІАЦ мед. статистики : МВЦ «Медінформ», 2007. — 628 с.
2. Влияние перфторана, высоких доз аскорбиновой кислоты и их комбинации на цитокиновый профиль и уровень сывороточных иммуноглобулинов при остром панкреатите. / Д. Б. Демин, А. И. Смолягин, Е. В. Попова, [и др.] // Цитокин и воспаление. — 2009. — Т 8, № 3. — С. 59–63.
3. Иммунология. Методы исследований [под редакцией И. Лефковитса и Б. Пернуса] — М. : Мир. — 1983. — С. 188–212.
4. Лимфоцитотоксический тест как метод идентификации субпопуляций Т-лимфоцитов моноклональными антителами / А. М. Сочнер, И. Е. Бельченко, А. М. Бурштейн [и др.] // Лаборат. Дело. — 1989. — № 3. — С. 29–32.
5. Оценка иммунного статуса человека при массовых исследованиях. Метод/реком. для научных работников и врачей практического здравоохранения / Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, В. В. Пинегин и др. // Иммунология. — 1992. — № 6. — С. 51–63.
6. Ротар О. В. Гострий панкреатит і пристінкова мікрофлора тонкої і товстої кишок: дисбактеріоз і тран-

- слюкація бактерій у підшлункову залозу / О. В. Ротар, В. І. Ротар // Клінічна та експериментальна патологія. — 2011. — Т. X., № 1 (35). — С. 143–147.
7. Філіппов Ю. О. Сучасні уявлення про патогенетичні аспекти хронічного панкреатиту / Ю. О. Філіппов, О. О. Крилова // Журн. АМН України. — 2008. — № 4. — С. 651–664.
8. Філіппов Ю. О. Сучасні уявлення про патогенетичні аспекти хронічного панкреатиту (огляд літератури). / Ю. О. Філіппов, О. О. Крилова // Клінічна медицина. — 2008. — № 4. — С. 651–664.
9. Христинич Т. Н. Хронический панкреатит: возможные механизмы развития и хронизации / Т. Н. Христинич // Сучасна гастроентерол. — 2011. — № 1 (57). — С. 98–102.
10. Христинич Т. Н. Хронический рецидивирующий панкреатит в период острой атаки и синдром системного воспалительного ответа: патогенетические и клинические аспекты / Т. Н. Христинич // Сучасна гастроентерол. — 2009. — № 4 (48). — С. 14–17.
11. Simple method of circulating immune complex detection in human polyethilen glycol precipitation / V. Haskova, K. L. Haslik, F. Rina [et.all] // G. Immunitete farsch. — 1978. — Vol. 154. — № 4. — P. 399–406.



ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ  
РЕАКТИВНОСТЬ  
У БОЛЬНЫХ  
С ОСЛОЖНЕНИЯМИ  
ХРОНИЧЕСКОГО  
ПАНКРЕАТИТА  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ  
БАКТЕРИАЛЬНОГО  
ЗАСЕЛЕНИЯ КИСТ  
И ГЛАВНОГО  
ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО  
ПРОТОКА  
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Л. В. Тропко, О. М. Бабий,  
В. Е. Кудрявцева,  
О. М. Татарчук,  
Б. Ф. Шевченко*

**Резюме.** В статье изучено влияния микробной контаминации содержимого псевдокисты и главного панкреатического протока поджелудочной железы на изменения показателей иммунологической реактивности у больных с осложненным хроническим панкреатитом.

**Ключевые слова:** *иммунологическая реактивность, осложненный хронический панкреатит, бактериальное содержимое кист и панкреатического протока поджелудочной железы.*

IMMUNOLOGICAL  
REACTIVITY IN PATIENTS  
WITH COMPLICATED  
CHRONIC PANCREATITIS,  
DEPENDING ON THE  
BACTERIAL COLONIZATION  
OF CYSTS AND THE MAIN  
PANCREATIC DUCT OF THE  
PANCREAS

*L. V. Tropko, O. M. Babiy,  
V. E. Kudryavtseva,  
O. M. Tatarchuk,  
B. F. Shevchenko*

**Summary.** The paper studied the influence of microbial contamination of the content of the pseudocyst and the main pancreatic duct of the pancreas to changes in indicators of immune reactivity in patients with complicated chronic pancreatitis.

**Key words:** *immunological reactivity, complicated chronic pancreatitis, bacterial content of cysts and pancreatic duct of the pancreas.*