

УДК 616. 342-002.44-053.2:579.84

В.М. Дудник, Н.О. Буглова

ВМІСТ ТОЛ-ПОДІБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 У ДІТЕЙ ІЗ ВИРАЗКОЮ ДВАНДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЗАЛЕЖНО ВІД НАЯВНОСТІ *H. PYLORI* ІНФЕКЦІЇ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Резюме. У статті наведені дані щодо вмісту Тол-подібного рецептора 4 у сироватці крові та особливості морфометричних показників слизової оболонки дванадцятипалої кишки в дітей із виразкою різного ступеня тяжкості, асоційованою з *H. pylori*. Показано, що в дітей розвиток виразки дванадцятипалої кишки, асоційо-

ваної з *H. pylori*, супроводжується підвищенням рівня Тол-подібного рецептора 4, що має прогностичне значення стосовно репаративних можливостей слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

Ключові слова: діти, виразка дванадцятипалої кишки, Тол-подібний рецептор 4, *H. pylori*.

Вступ. Проблема хронічної гастроентерологічної патології продовжує залишатися соціально вагомим, що зумовлено постійним зростанням розповсюдженості захворювань травного тракту як серед дорослого, так і дитячого населення протягом декількох десятиліть. В її структурі переважають захворювання шлунка та дванадцятипалої кишки, серед яких значне місце посідає виразка дванадцятипалої кишки (ДПК). Виразка ДПК часто починається в дитячому віці і становить 8-12 % [2, 4]. Сучасні уявлення про формування та розвиток виразки дванадцятипалої кишки базуються на узагальнюючій концепції дисбалансу факторів агресії та захисту слизової оболонки дванадцятипалої кишки (СОДПК). Серед основних причин даної патології в останні роки основне значення надається мікроорганізму *H. pylori*. Дані міжнародних епідеміологічних досліджень довели переважання виразки, асоційованої з *H. pylori*, що становить в середньому 95% випадків за умови локалізації виразки у дванадцятипалій кишці. Визначено, що інвазія *H. pylori* ініціює каскад запальних та імунних реакцій і супроводжується комплексом патоморфологічних змін СОДПК. Основними механізмами, якими *H. pylori* індукує запальний процес і ушкодження, є вивільнення токсинів, що стимулюють притягнення запальних клітин і ушкодження ними епітелію слизової оболонки, а також безпосередня дія *H. pylori* на епітеліоцити, експресія факторів хемотаксису та імунна відповідь організму.

Велике значення останнім часом набуває вивчення ролі Тол-подібних рецепторів на прояви реакції природженого імунітету при виразці шлунка та дванадцятипалої кишки [1, 6]. Дана система неспецифічного імунного захисту представлена нейтрофілами, моноцитами, макрофагами та дендритними клітинами тощо. Сигнальні трансмембранні Тол-подібні рецептори (Toll-like receptor) посідають центральне місце в системі розпізнавання консервативних молекулярних структур мікроорганізмів, які були названі патоген-асоційованими молекулярними структурами (pathogen-associated molecular patterns – PAMP). Натепер ідентифіковано 10 типів Тол-подібних рецепторів у людей, 13 типів у мишей. Функцією Тол-подібних рецепторів є швидке розпізнавання

та елімінація бактерій, вірусів та деяких найпростіших, зв'язок з адаптивним імунітетом. Тол-залежна рецепція є пусковим моментом для активації епітеліальних клітин через каскад внутрішньоклітинних реакцій, у результаті чого змінюється функціональна активність епітеліоцитів, яка може проявлятися у вигляді посиленої секреції цитокінів, пептидних медіаторів, дифензинів, інгібіторів прозапальних агентів, цитокінових та інших рецепторів, молекул основного комплексу гістосумісності [8].

Особливу роль у розвитку інфекційно-запального процесу, викликаного *H. pylori*, відіграє Тол-подібний рецептор 4 [7]. Активація Тол-подібних рецепторів призводить до синтезу двох основних груп цитокінів: прозапальних цитокінів і інтерферонів 1 типу, головним чином інтерферонів α , β . Основним за значенням є комплекс синтезу прозапальних цитокінів інтерлейкіну 1, 6, TNF і хемокінів, що стимулюють подальший розвиток запальної реакції та поширення активації різних типів клітин, які підтримують і регулюють запалення, включаючи всі типи лейкоцитів, дендритних клітин, Т- і В-лімфоцити, ендотеліальні і епітеліальні клітини, фібробласти та інші [5, 8]. Це забезпечує послідовні стадії розвитку запальної реакції, яка є основним механізмом для реалізації природженого імунітету. Рівень експресії сигнальних рецепторів може змінитися під час інфекційних або алергічних захворювань. Так, деякі сигнали можуть викликати «фізіологічний» рівень продукції медіаторів (наприклад, цитокінів), інші сигнали, навпаки – гіперпродукцію цитокінів і хемокінів і, як наслідок, – посилювати запальний процес. Відомо, що не останнє місце у визначенні етіології, патогенезу та прогнозу захворювання відіграє не лише морфологічне дослідження слизової дванадцятипалої кишки [3], але й визначення зв'язку вмісту тол-подібного рецептора 4 залежно від наявності *H. pylori* інфекції, що має велике значення як із наукової, так і з практичної точки зору розуміння проблеми виразки ДПК у дітей.

Мета дослідження. Визначити морфометричні особливості слизової оболонки при виразці ДПК та зв'язок вмісту Тол-подібного рецептора 4

у сироватці крові дітей залежно від наявності *H. pylori*.

Матеріал і методи. Під спостереженням перебувало 54 дитини віком від 7-18 років, хворих на виразку ДПК у стадії загострення. З них 12 дівчат та 42 хлопчики. Контрольну групу склали 25 дітей відповідного віку з незміненою гастродуоденальною слизовою оболонкою, що не мали хронічних захворювань. Середній вік хворих становив $13,3 \pm 0,2$ року.

У дослідженні використані клінічні, лабораторні та інструментальні методи обстеження. Усім дітям проведено ЕФГДС із прицільною біопсією слизової оболонки періульцеральної ділянки дванадцятипалої кишки за допомогою відео-системи "VIDEO SYSTEM OTV-SC, OLIMPUS GIF-XPE", морфологічні дослідження (31 біопат дітей із виразки ДПК) – гістологічні препарати: забарвлення гематоксилін-еозином. Для діагностики інфекції *H. pylori* використовувався уреазний тест (URE-HP-test). Усім дітям проведена інтрагастральна рН-метрія.

Вміст Тол-подібного рецептора 4 у сироватці крові визначали імуоферментним методом за набором "Human TLR4 ELISA Kit" (NeoBiolab, США) відповідно до інструкції фірми-виробника. Розподіл рівня Тол-подібного рецептора 4 здійснювали за допомогою статистичного методу поділу варіаційних рядів на квартилі.

Результати дослідження та їх обговорення. Діти, що перебували під наглядом, були розподілені залежно від інфікування *H. Pylori*. До першої групи увійшли 40 (74,07 %) дітей, хворих на *H.*

Pylori (+) виразку ДПК, до 2-ї групи – 14 (25,93 %) дітей, хворих на виразку ДПК, з відсутністю *H. Pylori* інфекції. Тяжкий ступінь захворювання спостерігався у 16 (29,63 %) дітей, 38 (70,37 %) середнього ступеня тяжкості з *H. Pylori* (+) виразкою ДПК. У дітей із загостренням *H. Pylori* (+) виразки ДПК встановлено значне підвищення показників Тол-подібного рецептора 4 порівняно з контрольною групою. У хворих він становив ($1476,8 \pm 100,92$) та ($672,8 \pm 36,43$) пг/мл ($p < 0,01$) відповідно. Аналіз вмісту Тол-подібного рецептора 4 показав, що рівень в сироватці крові був значно вищим у *H. Pylori* (+) дітей, порівняно з *H. Pylori* (-) пацієнтами ($1476,8 \pm 100,92$) та ($857,9 \pm 73,05$) пг/мл, $p < 0,01$). Порівнюючи кількість дітей, хворих на виразку ДПК, залежно від наявності *H. Pylori* встановлено, що діти з *H. Pylori* (+) виразкою ДПК переважали на 68,24% порівняно з *H. Pylori* (-) виразкою з вмістом Тол-подібного рецептора 4 на рівні IV квартилі (табл. 1).

При аналізі змін показників Тол-подібного рецептора 4 у сироватці крові у дітей із різною тяжкістю перебігу захворювання встановлено, що при тяжкому ступені захворювання рівень рецептора був максимальним і становив ($2302,5 \pm 186,99$) пг/мл відносно норми ($p < 0,001$). При середньому ступені тяжкості його вміст був достовірно нижчим, ніж у хворих із тяжким перебігом, і складав ($1287 \pm 69,39$) пг/мл ($p < 0,001$), однак перевищував значення порівняно зі здоровими дітьми в 1,87 раза.

Встановлено, що кількість дітей, які мали вміст Тол-подібного рецептора 4 на рівні IV ква-

Таблиця 1

Частка Тол-подібного рецептора 4 у сироватці крові у дітей, хворих на виразку дванадцятипалої кишки в стадії загострення залежно від наявності *H. Pylori*

Тол-подібний рецептор 4 пг/мл	<i>H. Pylori</i> (+) n=40		<i>H. Pylori</i> (-) n=14	
	Абс.	%	Абс.	%
I квартиль (<850)	3	7,5±4,16	5	35,71±12,15
II квартиль (850-1230)	7	17,5±6,0	3	21,42±10,95
III квартиль (1230-1560)	12	30±7,24	4	28,57±12,11
IV квартиль >1560	18	45±7,82*	2	14,29±9,52

Примітка. * - вірогідно щодо дітей, хворих на *H. Pylori* (-) виразку ДПК, $p < 0,05$

Таблиця 2

Частка Тол-подібного рецептора 4 у дітей, хворих на виразку дванадцятипалої кишки в стадії загострення залежно від ступеня тяжкості захворювання

Тол-подібний рецептор 4 пг/мл	Середній ступінь виразки ДПК, n=38		Тяжкий ступінь виразки ДПК, n=16	
	Абс.	%	Абс.	%
I квартиль (<850)	7	18,42±6,61	1	6,25±6,11
II квартиль (850-1230)	7	18,42±6,61	3	18,75±9,73
III квартиль (1230-1560)	13	34,21±7,53	3	18,75±9,73
IV квартиль >1560	11	28,95±7,14	9	56,25±12,30*

Примітка. * - вірогідно щодо дітей, хворих на виразку ДПК з середнім ступенем тяжкості захворювання, $p < 0,05$

Таблиця 3

Морфометричні показники слизової оболонки дванадцятипалої кишки залежно від наявності *H. pylori*

Показники	Діти з <i>H. pylori</i> виразкою ДПК (+), n=25	Діти з <i>H. pylori</i> виразкою ДПК (-), n=6	Контрольна група, n=5
Кількість сегментоядерних нейтрофілів	37,2±0,92**	18,4±0,48*	-
Кількість лімфоцитів	24,42±0,47**	10,75±0,32*	1,4±0,25
Кількість зруйнованих та злущених епітеліоцитів (%)	44,05±0,42**	28,83±0,34*	1,94±0,11

Примітка. 1. *- p<0,05 – вірогідно відносно показників дітей з *H. pylori* (+) виразкою ДПК. 2. ** - p<0,05 – вірогідно відносно показників дітей з *H. pylori* (-) виразкою ДПК

Таблиця 4

Морфометричні показники слизової оболонки шлунка у дітей із виразкою дванадцятипалої кишки, асоційованою з *H. pylori*

Показники	Діти з <i>H. pylori</i> (+) виразкою ДПК середньої тяжкості, n=18	Діти з <i>H. pylori</i> (+) виразкою ДПК тяжкого ступеню, n=7	Контрольна група, n=5
Відносний об'єм уражених епітеліоцитів, %	29,17±0,41*	41,07±0,42**	1,85±0,12
Кількість плазмоцитів	19,78±0,45*	39,74±1,95**	2,4±0,3
Кількість лімфоцитів	6,28±0,28*	12,62±0,51**	2,1±0,15
Загальна кількість запальних клітин	27,15±0,67*	56,48±3,15**	3,5±0,5
Клітинна щільність інфільтрату	10957,14±112,9*	17342,26±115,85**	6785,56±299,37

Примітка. 1.*-p<0,05 - вірогідно щодо дітей, хворих на *H. pylori* (+) виразку ДПК із середнім ступенем тяжкості, p<0,05. 2.**- p<0,05 – вірогідно щодо дітей, хворих на *H. pylori* (+) виразку ДПК з тяжким ступенем, p<0,05

ртило з тяжким перебігом виразки ДПК, на 53,21 % більше, ніж тих, які мали середній ступінь тяжкості захворювання (табл. 2).

Таким чином, розвиток запальної реакції в гастродуоденальній слизовій оболонці супроводжується підвищенням рівня Тол-подібного рецептора 4 та його вміст пов'язаний із тяжкістю захворювання.

У 35,4 % пацієнтів діагностовано I ступінь активності запалення слизової оболонки, у 46,1 % пацієнтів – II ступінь активності запалення, у 18,5 % осіб – III ступінь активності запалення СОДПК.

При морфометричному дослідженні біоптатів слизової оболонки дванадцятипалої кишки встановлено, що в слизовій оболонці дітей, хворих на виразку ДПК (+) *H. pylori*, спостерігалось достовірне (p<0,05) підвищення кількості сегментоядерних нейтрофілів (37,2±0,92) та лімфоцитів (24,42±0,47) (у 2,0 та 2,27 раза) порівняно з *H. pylori* (-) пацієнтами, (18,4±0,48) та (10,75±0,32) відповідно (табл. 3).

Тоді, як діти з *H. pylori* (-) виразкою ДПК мали достовірно підвищені показники лімфоцитів (у 7,68 раза) порівняно з контрольною групою. У дітей, хворих на виразку ДПК, асоційовану з *H. Pylori*, спостерігалось достовірне підвищення (p<0,05) кількості зруйнованих та злущених епітеліоцитів порівняно з даним показником у дітей з

H. pylori (-) виразкою ДПК та контрольною групою. Відомо, що даний мікроорганізм здатний впливати на обидва елементи клітинного відновлення *H. pylori*, стимулює апоптоз і за законом зворотного зв'язку посилює проліферацію. При вираженій колонізації *H. pylori* загибель клітин посилюється, сповільнюючи ріст епітелію. Таким чином, *H. pylori* посилює дизрегуляторні зміни в слизовій оболонці дітей, хворих на виразку ДПК.

Під час дослідження встановлено, що в дітей із виразкою ДПК тяжкого ступеня, інфікованих *H. pylori*, було достовірне (p<0,05) збільшення загальної кількості запальних клітин (56,48±3,15) майже у два рази порівняно з хворими на виразку ДПК середнього ступеня тяжкості (27,15±0,67). Так, кількість плазмоцитів збільшилася до (39,74±1,95) при тяжкому ступені, і (19,78±0,45), відповідно, при середньому ступені тяжкості захворювання, порівняно з контрольною групою (2,4±0,3). Щодо кількості лімфоцитів, то збільшення їх кількості відбувалось у три рази в групі з середнім ступенем тяжкості і в шість разів при тяжкому ступені виразки ДПК(табл. 4).

Із визначенням клітинної щільності інфільтрату в пацієнтів із виразкою ДПК тяжкого ступеня встановлено її достовірне (p<0,05) збільшення (на 25 %), а в дітей із захворюванням середнього ступеня – збільшення (на 16 %) порівняно з дітьми контрольної групи.

При зіставленні показників Толл-подібного рецептора 4 у сироватці крові з виразністю запальних змін у СОДПК залежно від тяжкості захворювання, відмічено однонаправлений позитивний кореляційний зв'язок ($p < 0,05$) у межах $r_{xy} = +0,52$ із відносним об'ємом уражених епітеліоцитів, плазмоцитів, загальною кількістю запальних клітин, лімфоцитів та клітинною щільністю інфільтрату.

Висновки

1. При морфометричному дослідженні в дітей із виразкою дванадцятипалої кишки виявлена чітка залежність активності запального процесу в слизовій оболонці від наявності *H. pylori* інфекції. У дітей, хворих на *H. Pylori* (+) виразку спостерігалось достовірне ($p < 0,05$) підвищення кількості сегментоядерних нейтрофілів ($37,2 \pm 0,92$) та лімфоцитів ($24,42 \pm 0,47$) порівняно з *H. pylori* (-) пацієнтами, ($18,4 \pm 0,48$) та ($10,75 \pm 0,32$). Також визначаються значні зміни показників вмісту Толл-подібного рецептора 4 у сироватці крові залежно від тяжкості перебігу та наявності *H. pylori* інфекції. Існує прямий кореляційний зв'язок між рівнем Толл-подібного рецептора 4 і вираженістю запальних змін у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки ($r_{xy} = +0,52$, $p < 0,05$).

2. За несприятливого перебігу захворювання відмічалось підвищення показників вмісту Толл-подібного рецептора 4 ($(2302,5 \pm 186,99)$ пг/мл та $(1287 \pm 69,39)$ пг/мл, $p < 0,001$ відносно середнього ступеня тяжкості захворювання), що може служити прогностичним критерієм відсутності або сповільненої репарації виразки чи рубцюванням та грануляцією. Визначення вмісту Толл-подібного рецептора 4 у сироватці крові в динаміці відображає тенденцію перебігу виразки в подальшому.

Перспективи подальших досліджень. Важливим є визначення в подальшому рівня Толл-подібного рецептора 4 у дітей із виразкою ДПК, як прогностичного критерію розвитку тяжкого перебігу захворювання, що сприятиме оптимізації діагностичних та лікувально-профілактичних підходів у дитячій гастроентерології.

Література

1. Генетичний поліморфізм ASP299GLY гена Толл-подібного рецептора 4 в дітей із гелікобактерною інфекцією / О.Є. Абатуров [и др.] // Здоров'я ребенка. – 2013. – № 6. – С. 14-18.
2. Кильдиярова Р.Р. Наглядная детская гастроэнтерология и гепатология: учебное пособие / Р.Р. Кильдиярова, Ю.Ф. Лобанов. – М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2013. – С. 34-39.
3. Клинико-морфологические особенности язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей / Ю.А. Лысиков [и др.] // Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского. – 2011. – Т. 90, № 2. – С. 38-42.
4. Маев И.В. Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки: диагностика и лечение / И.В. Маев, Т.С. Оганесян, Ю.А. Кучерявий // Consilium Medicum. – 2010. – Т. 12, № 8. – С. 34-37.
5. Сокольник С.В. Стан цитокінового профілю, прооксидантної та антиоксидантної систем у дітей з виразковою хворобою дванадцятипалої кишки залежно від цитотоксичності штамів *Helicobacter pylori* / С.В. Сокольник // Сучас. гастроентерол. – 2012. – № 6. – С. 33-37.
6. Toll-Like Receptors and Cytokines are Upregulated during *Helicobacter pylori* Infection in Children / H. Lagunes-Servin, J. Torres, C. Maldonado-Bernal [et al.] // *Helicobacter*. – 2013. – Vol. 18. – P. 423-432.
7. Toll-like receptor (TLR2, TLR4 and TLR5) gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection in children with and without duodenal ulcer / S.B. Moura, L.R. Almeida, J.B. Guerra [et al.] // *Microbes Infect.* – 2008. – Vol. 14-15. – P. 1477-1483.
8. Torok A.M. *Helicobacter pylori* Induces Interleukin-8 Secretion by Toll-Like Receptor 2 and Toll-Like Receptor / A.M. Torok // *Infect Immun.* – 2010. – Vol. 73 (3). – P. 1523-1531.

СОДЕРЖАНИЕ ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 У ДЕТЕЙ С ЯЗВОЙ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ *H. PYLORI* ИНФЕКЦИИ

В.М. Дудник, Н.А. Буглова

Резюме. В статье приведены данные относительно уровня Толл-подобного рецептора 4 в сыворотке крови и особенностей морфометрических показателей слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки у детей с язвой двенадцатиперстной кишки разной степени тяжести, ассоциированной с *H. pylori*. Показано, что у детей развитие язвы двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H. pylori* сопровождалось повышением уровня Толл-подобного рецептора 4 в сыворотке крови, что имеет прогностическое значение относительно репаративных возможностей слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.

Ключевые слова: дети, язва двенадцатиперстной кишки, Толл-подобный рецептор 4, *H. Pylori*.

CONTENTS OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 IN CHILDREN WITH DUODENAL ULCER SUBJECT TO AVAILABILITY OF *H. PYLORI* INFECTION

V.M. Dudnyk, N.O. Buglova

Abstract. The article presents data on the level of toll-like receptor 4 in serum and features of morphometric parameters of the duodenal mucosa in children with duodenal ulcer disease of varying severity associated with *H. pylori*. It is shown that in children the development of duodenal ulcer is associated with *H. pylori* accompanied by increased levels of Toll-like receptor 4 in the blood serum, which has prognostic value with respect to indicators of the reparative function of the duodenal mucosa.

Key words: children, duodenal ulcer, toll-like receptor 4, *H. pylori*.

Pyrohov National Medical University (Vinnytsya)

Рецензент – проф. С.В. Сокольник

Buk. Med. Herald. – 2016. – Vol. 20, № 1 (77). – P. 30-33