350±12,4 н/л соответственно) (p<0,05). По данным динамической трансабдоминальной ультрасонографии до и после лечения наблюдалось достоверно значимое повышение сократительной функции желчного пузыря у детей с функциональными расстройствами желчного пузыря и сфинктера Одди на фоне назначения в терапию урсодезоксихолевой кислоты (21,43±1,98% и 44,21±1,91% соответственно) (p<0,05). Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения урсодезоксихолевой кислоты в комплексной терапии функциональных расстройств желчного пузыря и сфинктера Одди у детей.

Ключевые слова: функциональные расстройства желчного пузыря и сфинктера Одди; урсодезоксихолевая кислота; дети.

Стаття надійшла 15.09.18 р.

n/l, respectively) (p<0,05). According to the dynamic transabdominal ultrasound before and after treatment, a significantly significant increase in the contractile function of the gallbladder in children with functional disorders of the gall bladder and sphincter of Oddi was observed against the background of administration of ursodeoxycholic acid (21,43±1,98% and 44,21±1,91%, respectively) (p<0,05). The obtained results testify to the effectiveness of the use of ursodeoxycholic acid in the complex therapy of functional disorders of the gall bladder and sphincter of Oddi in children.

Keywords: functional disorders of the gall bladder and sphincter of Oddi; ursodeoxycholic acid; children.

Рецензент Крючко Т.О.

DOI 10.26724/2079-8334-2019-1-67-11
УДК616.33/.342-002.153-022-097-053.4/.71-036.8

Г.В. Бекетова[1], С.Г. Гичка[2], М.І. Нехаєнко[1], Н.І. Горголь[3], І.П. Горячева[1], О.В. Солдатова[1], Н.В. Алексєєнко [1]
[1]Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, Київ
[2]Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ
[3]Харківський національний медичний університет, Харків

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ ІНФЕКЦІЙНИХ ЧИННИКІВ НА ПРОЦЕСИ РЕПАРАЦІЇ ТА НЕСПЕЦИФІЧНИЙ ЗАХИСТ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКУ У ПІДЛІТКІВ З ХРОНІЧНИМИ ГАСТРОДУОДЕНІТАМИ

E-mail: gorgol_neh@ukr.net

В статті авторами представлені результати патогістологічного і імуногістохімічного дослідження біоптатів СО шлунку у підлітків з ХГД на фоні інфікування H.p., ХК ТТ, при поєднанні інфекційних факторів та за відсутності асоціації із інфекційними агентами.

Особливостями процесів репарації СОШ у підлітків з ХГД є: активність маркера макрофагів CD68 у ВП в місці її дифузної інфільтрації при H.p-інфікуванні; при асоційованому інфікуванні – в лімфоїдних фолікулах; при ХК ТТ – в поверхневому епітелії та дифузних інфільтратах ВП; за відсутності інфікування – в поодиноких клітинах ВП. Активність маркеру проліферації Кі-67 виявлено в поверхневих залозах і ВП в місці дифузної інфільтрації у пацієнтів I групи; у II групі – в лімфоїдних фолікулах і поверхневих залозах; у III групі – у місці дифузної інфільтрації ВП, поверхневих і глибоких залозах, у IV групі – в клітинах поверхневого епітелію. Молекулярні механізми впливу інфекційних агентів і їх взаємодія із компонентами вродженого імунітету та відповідною клітинною реакцією імунної системи у підлітків із ХГД на тлі ХК ТТ відображається у найвищих показниках експресії TLR2 і TLR4 і їх розповсюдженості на епітелії, ВП і залозах, що може свідчити про потенціювання збудження рецепторів. Відношення ступеню експресії TLR4 / TLR2 більше 1,0 виявлене у хворих з ХГД, асоційованим з H.p., менше 1,0 – за наявності ХК ТТ, що свідчить не лише про наявність, а й виразність інфікування. Отримані результати підтверджують патогенетичну роль грибів роду Кандида у формуванні та більш тяжкому перебігу ХГД у підлітків як при моно-, так і асоційованому інфікуванні. Вказане необхідно враховувати при створенні програми диференційованого лікування з метою досягнення стійкої ремісії ХГД, ерадикації інфекційних агентів, адекватної репарації та відновлення антиінфекційної резистентності СО ТТ.

Ключові слова: підлітки, хронічний гастродуоденіт, хелікобактеріоз, хронічний кандидоз, CD68, Кі-67, TLR2, TLR4.

Робота є фрагментом НДР «Передумови формування соматичної патології у дітей і підлітків та удосконалення лікувально-реабілітаційних заходів» (номер державної реєстрації 0114U002213).

Серед гастроентерологічних захворювань у дітей і підлітків у багатьох країнах світу найпоширенішими є хронічні гастродуоденіти (ХГД) [2, 4]. На сьогодні досягнуто значних успіхів у вивченні патогенезу захворювання, діагностиці і розробці нових підходів до лікування. Однак, в останні десятиліття у педіатрів та дитячих гастроентерологів викликає занепокоєння низка проблем, пов'язаних зі зростанням частоти деструктивних форм ХГД, асоційованих з інфекцією Helicobacter pylori (H.p.) й іншими мікроорганізмами, тропними до слизової оболонки травного тракту (СО ТТ), зокрема грибами роду Candida, формуванням гіпоацидності шлунку, недостатньою ефективністю загально прийнятих методів терапії захворювання, що призводить до формування в подальшому соціально значущої патології й інвалідності у дорослих [3, 7]. Доведено, що пік розвитку ХГД припадає на період статевого дозрівання дитини, коли відбувається кардинальна перебудова всіх органів і систем та підвищується її чутливість до інфекційних агентів [5, 6]. Однак, на сьогодні не вивчено вплив асоціацій інфекційних агентів на перебіг та лікування захворювання саме у підлітковому віці, коли відмічається зростання частоти формування гіпоацидності шлунку з розвитком вогнищевих атрофічних змін його СО та свідчить про актуальність проблеми.

© Г.В. Бекетова, С.Г. Гичка, 2019

Сучасні аспекти вивчення патогенезу ХГД потребують визначення ролі факторів місцевого захисту СО шлунку і дванадцятипалої кишки (ДПК). Одними із основних клітин імунної системи (ІС) є мононуклеарні фагоцити (CD68), які в периферичній крові представлені моноцитами, в тканинах– макрофагами. Висока фагоцитарна активність і бактерицидність, а також участь в індукції гуморального і клітинного імунітету, обумовлюють їх здатність знищувати апоптозні клітини та впливати на патогени. Макрофаги є важливими координаторами імунної відповіді. Контакт із мікроорганізмом або його PAMP (pathogen-associated molecular patterns) призводить до активації самого макрофагу і збудження PRR (pattern-recognition receptors), зокрема, TLRs (Toll-like-receptors) на ньому, що в свою чергу, збільшує секрецію прозапальних цитокинів. В літературних джерелах є дані щодо особливостей експресії макрофагів в запальному інфільтраті при гострому панкреатиті у дорослих, які розцінювались, як прогностичний фактор несприятливого перебігу захворювання [2]. В роботах професора Абатурова О.Є. збільшення рівню CD68 мало місце при GagA (+) H.p.-асоційованих ХГД [1]. Їх мінімальний рівень активності був виявлений у пацієнтів з GagA(-) H.p.-асоційованими ХГД, а не у хворих контрольної групи з H.p.-неасоційованим гастритом, що свідчить про можливу роль інших інфекційних причин у формуванні захворювання [3, 8].

Як відомо, різний ступінь активності патологічного процесу обумовлений співвідношенням процесів апоптозу і проліферації епітелію, в основі яких є порушення клітинного оновлення і регенерації СО шлунку та який реалізує послідовність стадій від неатрофічного через ерозивний до атрофічного гастриту. На сьогодні є достатньо вивченим механізм прогресування морфологічних змін в СО при ХГД, асоційованому з H.p. з порушенням співвідношення процесів проліферації й апоптозу, що підтверджено зміною експресії молекул Ki-67, PCNA, Bcl-2 і Bax [7]. Доведено, що посиленій клітинній загибелі відповідає і більш значна проліферативна активність епітеліоцитів. Відповідно, висока експресія маркерів проліферації, як прояв клітинного відновлення, виявляється при виразній інфільтрації СОШ лімфоцитами. Існує незначна кількість робіт в дитячій гастроентерології, присвячених особливостям репаративних процесів при ХГД, не асоційованому із H.p. Літературні дані мають суперечливий характер щодо співвідношення процесів проліферації та апоптозу при ХГД, асоційованому з H.p. Професор Тяжка О.В. і співавт. [7] вивчали показники клітинного оновлення при ХГД і продемонстрували відсутність впливу інфекції H.p. на ступінь запального процесу і показники клітинного оновлення. Тому і можливість зворотного розвитку морфологічних змін і поліпшення репаративних процесів після проведеної ерадикаційної терапії є неоднозначною. Саме дисбаланс процесів апоптозу і проліферації вважають прогностичним показником для майбутнього рецидиву і розвитку деструктивних змін СОШ [7]. При цьому вплив інших мікроорганізмів, зокрема, грибів роду Кандида, на процеси проліферації при ХГД у підлітків залишається не вивченим.

Активація Toll-подібних рецепторів (TLR2, TLR4), які відіграють провідну роль в ідентифікації PAMP патогенів на СО ТТ і запуску каскаду імунних реакцій є одним зі значущих факторів щодо ефективної ерадикації патогенів, репарації пошкоджених тканин та одужання пацієнта, в той час як їх недостатня активація може сприяти хронізації запалення, а надмірна – виникненню автоімунного процесу. Через експресію TLR2 і TLR4 запускаються механізми вродженого, а в подальшому і набутого імунітету з активацією антигенпрезентуючих клітин (дентритні клітини, мононуклеарні фагоцити). TLR-аксесуарною молекулою на поверхні мембрани бактерій є ліпополісахариди (lipopolysaccharide, LPS) Г-негативних бактерій та зимозан у грибів. В своїх роботах [1] автори виявили значну експресію TLR4 у дітей з ХГД, інфікованих H.p. і з'ясували їх роль у розвитку запалення СО шлунку. Проте, молекулярні механізми впливу асоціацій мікроорганізмів (H.p. та грибів роду Кандида) на перебіг ХГД, процеси запалення і репарації СОШ та підходи до лікування дітей і, особливо, підлітків на сьогодні практично не вивчені.

Метою роботи було з'ясування молекулярних механізмів впливу асоціації H.p. та грибів роду Кандида на запальні та репаративні процеси в СО шлунку при ХГД у підлітків.

Матеріал та методи дослідження. У гастроентерологічному відділенні ДКЛ №9 м. Києва обстежено 164 пацієнти з ХГД у віці 15-17 років. Діагноз ХГД верифікований відповідно до МКХ-10 та Наказу МОЗ України № 59 від 29.01.2013 року. Підлітки були розподілені на 4 репрезентативні групи: I (n = 22) – хворі, інфіковані H.p., без ознак хронічного кандидозу (ХК) ТТ; II група (n = 32) – пацієнти з H.p.-асоційованим ХГД та хронічним кандидозом (ХК) ТТ; III група (n = 78) – не інфіковані H.p., з ознаками ХК ТТ та IV група (n = 22) – хворі на ХГД без інфікування H.p. і проявів ХК ТТ.

Під час проведення ФЕГДС за наявності ендоскопічних змін СО гастродуоденальної зони, проводився забір гастробіоптатів із антрального відділу і тіла шлунку у 67 підлітків.

Для проведення імуногістохімічного вивчення показників запалення (CD-68 – маркеру макрофагів і Ki-67 – проліферації тканин), експресії Toll-подібних рецепторів (TLR2, TLR4), використовували парафінові блоки біоптатів тіла й антрального відділу СО шлунку. Отримували

зрізи за допомогою мікротому зі станцією прийому зрізів (Microm HM-340), що дозволило готувати серійні зрізи. Досліджені зрізи товщиною 4-5×10^{-6}м наносили на адгезивні предметні скельця Super Fros Plus, потім депарафінізовували відповідно до прийнятих стандартів tPlus із використанням непрямого стрептавидін-пероксидазного методу забарвлення. Для диференціювання структур тканин зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Маєра протягом 1-3 хвилин. Наступну дегідратацію і включення у бальзам здійснювали згідно загальноприйнятим методикам. Кожна клітина має специфічний антигенний склад, що визначається білковим складом. Шляхом імунізації утворюються відповідні антигенам антитіла, що зв'язуються із флюорохромами або ферментами. Після обробки досліджуваних гістологічних препаратів, в місцях локалізації відповідних антигенів концентруються молекули помічених антитіл. Відкладені фарбовані продукти гістохімічної реакції виявлялися при світловій мікроскопії.

В якості первинних використовували моноклональні антитіла до CD-68–маркера макрофагів, гістіоцитів (клон КР1, Dako). Ідентифікацію реакції проводили завдяки нанесенню хромогену (DAB (Lab Vision) під контролем мікроскопу протягом терміну від 20 секунд до 3 хвилин, з проявом у вигляді темно-коричневого забарвлення ядер специфічних структур. Мікроскопію проводили за допомогою мікроскопа Leica DMLS з використанням об'єктивів 410, 420, 440, 4100. Оцінку експресії CD-68–маркера проводили напівкількісним методом у % за загальноприйнятою методикою підрахунку забарвлених клітин у 3-5 полях зору.

Для візуалізації продуктів реакції застосовували UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer фірми Thermo SCIENTIFIC із використанням у якості первинних антитіл моноклональні антитіла до антигену Ki-67 (клон MIB-1, Dako), ER-α (клон 1D5, Dako), PR (PGR 636, Dako), BIRC5 (1:250, клон EP2880Y, Dako.). Аналіз експресії маркера проліферації Ki-67 проводили по кількості забарвлених в коричневий колір ядер клітин. Отримані за підрахунком позитивних клітин дані перераховували на 1мм^2.

Оцінку експресії Ki-67 і CD-68–маркера проводили напівкількісним методом у % за загальноприйнятою методикою підрахунку забарвлених клітин у 3-5 полях зору.

Проведено імуногістохімічне дослідження експресії Toll-подібних рецепторів (TLR2, TLR4). Для постановки імунологічної реакції зрізи проходити теплову обробку та блокування неспецифічного зв'язування білків протеїновим блоком DAKO і ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком DAKO. На оброблене скельце наносили антитіла. За допомогою детекції DAKO EnVizion визначали первинні антитіла. Чітку позитивну реакцію визначали за наявністю клітин та інтенсивністю забарвлення. Клітини із позитивною реакцією вивчали у 4-6 випадкових полях зору. Облік проводили за підрахунком клітин із позитивним результатом у 10 полях зору із збільшенням в 400 разів. Оцінку проводили за ступенем інтенсивності забарвлення і підрахунком забарвлених клітин за системою Mc. Carthy і співав. – Histochemical score (h.s.) з визначенням гісторахунку – суми добутків, де враховано долю клітин із різною інтенсивності забарвлення. Формула підрахунку Histochemical score = $\sum$ P(i) × i (гісторахунок), де i – інтенсивність пофарбування (0 – 3 бали), P(i) – % клітин, пофарбованих із різною інтенсивністю. Підрахунок в групах обстежених підлітків по 100 клітин (×400).

Імуногістохімічні препарати вивчали за допомогою мікроскопа Olympus B×51, цифрової камери Olympus C5050 Z та програмного забезпечення Olympus DP-Soft.

Морфологічні, морфометричні, імуногістохімічні (ІГХ) дослідження проводили в лабораторії кафедри патологічної анатомії №2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця під керівництвом д. мед. н., професора Гички С.Г., завідувача кафедри патологічної анатомії № 2 у співпраці із Туффаха Муін Інститутом патології Карл-Тім-Клінікум Котбус ГмбХ (академічна школа Шаріте, м. Котбус, Німеччина).

Статистична обробка отриманих результатів проведена загально-прийнятими методами. В роботі використовували Exel пакети аналізу даних описової статистики. Для оцінки різниці величин, які виражені у відсотках, застосовували критерії кутового перетворення Фішера, для порівняння середніх величин t-критерій Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведене ІГХ дослідження гастробіоптатів підлітків із ХГД з метою вивчення змін СО шлунку і оцінки особливостей патологічного процесу, залежно від наявності і комбінації інфекційного фактору в групах. Як відомо, PAMP мікроорганізмів через збудження TLR4 і TLR2 запускають фактори системи вродженого імунітету з синтезом прозапальних цитокінів та формуванням запалення. Ідентифікація H.p. і грибів роду Кандида при адекватному збудженні рецепторів обумовлює ефективну ерадикацію патогену та репарацію пошкоджених тканин. В той же час, недостатня активація рецепторів може стати причиною хронізації запалення, а надмірна – виникнення автоімунного процесу [1]. У підлітків І групи виявлена значна експресія TLR2 (42,6 ± 8,0 %) на макрофагах і поверхневому епітелії та активність TLR4 (50,4 ± 8,7 %) – на запальних клітинах ВП і залозах при співвідношенні TLR4 /

TLR2 – 1,22 ± 0,21. На думку О. Є. Абатурова [1], для збудження TLR4 необхідно попереднє порушення тісних контактів між клітинами, що обумовлено різницею в локалізації TLR2 і TLR4 на поверхні мембран епітеліоцитів. Також підтверджено, що розвиток Н.р.-асоційованого ХГД супроводжується підвищенням експресії TLR4 в СО шлунку. В II групі пацієнтів виявлена значна експресія як TLR4 (47,6 ± 9,5 %), так і TLR2 (52,5 ± 8,4 %) на макрофагах власної пластинки (ВП), епітеліоцитах і клітинах строми з їх співвідношенням 0,93 ± 0,16. В III групі хворих експресія TLR2 (58,7 ± 5,7 %) визначена на епітелії СО шлунку і поверхневих залоз, а у більш глибоких шарах – на макрофагах і лімфоїдних клітинах. Ступінь експресії TLR4 (35,2 ± 4,3 %) був значно меншим і виявлявся на покривному епітелію і клітинах поверхневих залоз при співвідношенні TLR4 / TLR2, як 0,60 ± 0,06. Отже, у підлітків з ХГД на тлі ХК ТТ був значний рівень експресії TLR2 (52,5 ± 8,4% у II групі і максимальний (58,7 ± 5,7 %) у III групі). Відомо, що TLR2 є розпізнавальним рецептором для зимозану Кандид, що підтверджує їх етіопатогенетичну роль у розвитку ХГД.

При патогістологічному дослідженні мікрофлори СО у підлітків при ХГД на тлі ХК ТТ в поверхневих відділах в просвіті залоз і в слизових масах шлунку ідентифіковані колонії грибків (рис. 1., рис. 2.). Виявлення грибів роду Кандида в гістологічних препаратах біоптатів СО шлунка у пацієнтів із ХГД та ознаками ХК ТТ становило 76,7 % ($p < 0,05$), в той же час в СО ротової порожнини (РП) вони були у 100,0 % пацієнтів. У підлітків із асоційованим інфікуванням методом цитологічного дослідження зішкрябу зі СО РП за наявності ознак ХК були ідентифіковані гриби роду Кандида у 100,0 % пацієнтів, а при подальшому морфологічному дослідженні біоптатів СО шлунку наявність збудника було підтверджено у 64,7 % випадків.

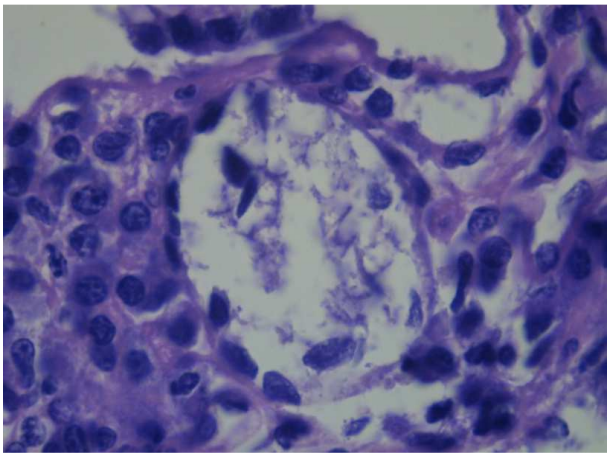

Рис. 1. Хронічний гастрит при інфікуванні грибами роду Кандида. Колонії грибів роду Кандида в просвіті залози. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х1000.

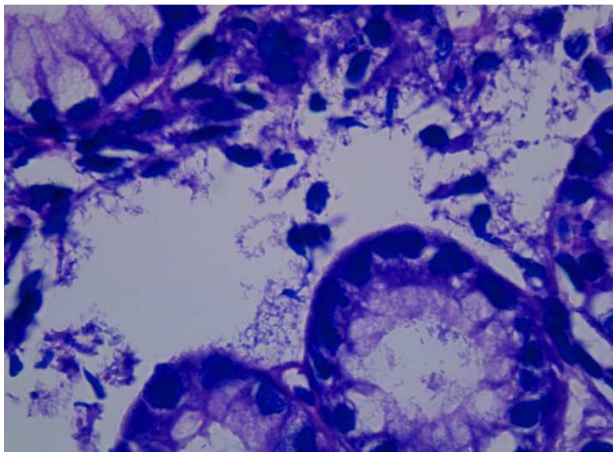

Рис. 2. Хронічний гастрит, поєднане інфікування Н.р. і грибами роду Кандида. Колонії грибів роду Кандида. Забарвлення гематоксиліном і еозином.×400.

В IV групі активність TLR2 виявлена в парієтальних клітинах, а на макрофагах ВП – мінімальна експресія як TLR2, так і TLR4. Тобто, у підлітків з ХГД без інфікування Н.р. і грибами роду Кандида, експресія TLR4 (24,8 ± 3,4 %) і TLR2 (23,2 ± 2,6 %) є незначною. Отже, найбільша експресія TLR2 була у хворих III групи, які мали ХГД, що перебігав на тлі ХК ТТ, в той час, як у пацієнтів I групи, інфікованих Н.р., була вища активність TLR4, що підтверджує роль грибів Кандида у формуванні ХГД.

Достатня експресія TLR2 і TLR4, окрім активації факторів вродженого імунітету, забезпечує формування механізмів набутого імунітету через антигенпрезентуючі клітини, зокрема, мононуклеарні фагоцити. Відповідно, після активації рецепторів, очікуваною є реакція макрофагів.

Молекулярними особливостями впливу інфекційних чинників на процеси репарації СО шлунку у підлітків з ХГД є висока експресія маркерів проліферації, як прояв їх участі в клітинному відновленні, що виявляється при її виразній інфільтрації лімфоцитами. Особливості впливу інфекційних чинників на процеси репарації СОШ у підлітків з ХГД нами досліджувались за показниками специфічного ІГХ-маркеру проліферації (антиген Кі-67), що присутній у всі активні фази клітинного циклу (G1, S, G2, і M). Вказане стало підставою для вибору саме його серед інших білків-регуляторів клітинного циклу селективних маркерів проліферуючих клітин і дозволило оцінити перспективу нормальної регенеративної функції СО шлунку при ХГД.

При хелікобактеріозі значна активність маркеру проліферації Кі-67 виявлена у дифузному інфільтраті ВП (9,3 ± 2,7 %) і поверхневих залозах (9,8 ± 3,3%) за наявності їх гіперплазії легкого ступеню, що свідчить про значну регенеративну здатність залозистого епітелію у даній зоні. Морфологічною особливістю СО шлунку у даної групи пацієнтів є виразна дифузна інфільтрація її

ВП лімфоцитами і поліморфно-ядерними лейкоцитами (ПЯЛ), з максимальною кількістю CD68 (2,2 ± 0,1 %) на фоні запалення, переважно, III ступеню.

При асоційованому інфікуванні морфологічно підтверджені гіперпластичні зміни залоз в поєднанні з осередками деструкції СО шлунку, які супроводжуються високим рівнем Кі-67 (11,8 ± 2,4 %) в реактивних центрах і в епітелії залоз на тлі великої кількості грибів роду Кандида в їх просвіті (рис. 2.). Відповідність виразності проліферативних ендоскопічних (поліпи) і морфологічних (ослизнення залоз) змін свідчить про високий ризик патологічної регенерації СО шлунку та вірогідність подальшого рецидивування ХГД за наявності грибів роду Кандида. Масивна макрофагальна інфільтрація CD68 (2,06 ± 0,10 %) ВП СО шлунку навколо лімфоїдного фолікула відповідала значній глибині розповсюдження патологічного процесу при асоційованому інфікуванні порівняно із моноінфікуванням H.p.

За наявності ХК ТТ виявлена інфільтрація поверхневого епітелію та ВП СО шлунку мононуклеарними клітинами з формуванням запального інфільтрату дифузного типу без утворення лімфоїдних фолікулів, з проникненням лімфоцитів і еозинофілів в окремі залози. Окрім цього, спостерігалась мукоїдизація поверхневих залоз та гіперплазія залоз у глибших шарах СО шлунку, як прояв патологічних проліферативних змін на фоні значної кількості грибів роду Кандида в їх просвіті (рис. 1.). Вказані зміни супроводжуються високим рівнем експресії Кі-67 (11,2 ± 2,5 %) в поверхневих і глибше розташованих залозах із перспективою розвитку їх атрофії та ризиком розвитку гіпоацидності.

Макрофаги локалізувалися переважно в поверхневих відділах СО шлунку і рівень CD68 становив 1,9 ± 0,1 % пофарбованих клітин, що було достовірно більшим (0,69 ± 0,2 %, $p<0,05$), ніж у групі підлітків із ХГД без асоціації із інфекційними агентами. Наявність макрофагів і лімфоїдних клітин підтверджують хронічне запалення. Однак, у ВП СО шлунку були відсутні лімфоїдні фолікули, плазмоцити та еозинофіли, не було ознак проникнення запальних клітин в залози, а також не виявлена гіперплазія та мукоїдизація поверхневих залоз, що відповідає I ступеню активності запалення (80,0 %). При цьому, вогнищева гіперпластична проліферація в межах епітелію органу свідчить про її здатність до нормальної регенерації без прогресування і рецидивування патологічного процесу. Відповідно і маркер проліферації Кі-67 був низький і складав 0,73 ± 0,6% пофарбованих клітин за відсутності інфікування на тлі мінімальної активності запалення.

З'ясовані нами морфологічні особливості свідчать, що ХГД у підлітків з хелікобактеріозом, ХК ТТ та їх поєднанням має відмінності у морфологічній картині. Вони характеризують глибину деструктивних змін і обумовлюють вид запалення, що впливає на регенеративні можливості СО шлунку. Отримані дані повинні враховуватись при розробці диференційованого комплексного лікування підлітків з ХГД для попередження прогресування захворювання та формування незворотної атрофії СО органу з розвитком її стійкої гіпоацидності.

Висновки

1. При H.p.-асоційованому ХГД експресія TLR4 виявлена на епітелії поверхневих залоз (49,4 ± 6,0 %), макрофагах ВП (51,7 ± 2,8 %) і TLR2 – на поверхневому епітелії (42,4 ± 3,0 %), поверхневих залозах (25,4 ± 6,0 %) та макрофагах ВП (21,3 ± 1,0 %); при поєднаному інфікуванні експресія TLR4 визначена на поверхневому епітелії (46,2 ± 3,2 %), поверхневих залозах (48,8 ± 1,8 %), макрофагах ВП (46,3 ± 2,0 %), лімфоцитах (46,8 ± 4,2 %), лімфоїдних фолікулах (47,4 ± 4,2 %). Експресія TLR2 – на поверхневому епітелії (52,7 ± 2,9 %), поверхневих залозах (51,3 ± 6,0 %), макрофагах ВП (50,2 ± 3,2 %), лімфоцитах (52,3 ± 1,8 %), лімфоїдних фолікулах (54,6 ± 2,0 %); за наявності ХК ТТ – експресія TLR4 виявлена на поверхневому епітелії (35,2 ± 2,0 %) і поверхневих залозах (34,8 ± 2,6 %), максимальна активність TLR2 – на поверхневому епітелії (57,4 ± 2,2 %), епітелії поверхневих залоз (56,4 ± 2,0 %), макрофагах ВП (18,9 ± 4,0 %), лімфоцитах (21,5 ± 1,6 %), еозинофілах (31,4 ± 1,6 %); за відсутності інфікування – експресія TLR4 і TLR4 виявлена на макрофагах ВП (20,4 ± 3,0 % і 16,7 ± 2,0 % відповідно).

2. Морфологічними особливостями ХГД у підлітків за наявності хелікобактерізу, грибів роду Кандида є: набряк і виразна клітинна дифузна інфільтрація ВП лімфоцитами, макрофагами, еозинофілами і лейкоцитами; формування лімфоїдних фолікулів; зміни в поверхневих залозах, їх гіперплазія і мукоїдизація з великою кількістю кандид у них – при поєднаному інфікуванні; при ХГД на фоні ХК ТТ – дифузна інфільтрація ВП еозинофілами, інфільтрація і гіперплазія поверхневих і глибоких залоз з великою кількість кандид у них; за відсутності інфікування – осередкова інфільтрація ВП макрофагами без змін у залозах.

3. Особливостями запалення і репарації СОШ у підлітків з ХГД є: активність маркера макрофагів CD68 в дифузних інфільтратах ВП при хелікобактеріозі; при асоціації H.p. з грибами роду Кандида – в лімфоїдних фолікулах; при ХК ТТ – в поверхневому епітелії й дифузних інфільтратах ВП; за відсутності інфікування – в поодиноких клітинах ВП. Експресія маркеру

проліферації Кі-67 виявлена в поверхневих залозах і ВП в місці дифузної інфільтрації у пацієнтів I групи; у II групі – в лімфоїдних фолікулах і поверхневих залозах; у III групі – в дифузних інфільтратах ВП, поверхневих і глибоких залозах, у IV групі – в клітинах поверхневого епітелію.

Список літератури

1.Abaturov OYe, Herasymenko OM. Rol TLR4, NLRC1/NOD1 ta NF-κB u rozvytku zapalennia slyzovoi obolonky shlunka pry khelikobakterniy infektsii u ditey. Zdorovye rebenka. 2014;3(54):74-79. [in Ukrainian]
2.Barsuk AV, Slavynskyi AA. Osobennosty ekspressii CD-68 v tkanevom vospalytelnom infiltrate podzheludochnoy zhelezy pri ostrom pankreatite. Uspekhi sovremennogo estestvoznanyia. 2013; 2:106-106. [inRussian]
3.Beketova HV. Infektsiynyi faktor u rozvytky khronichnoyi hastroduodenalnoyi patolohiyi u ditei ta pidlitkiv. Liky Ukrainy. 2000; 3: 51-55. [in Ukrainian]
4.Beketova HV, Ibragim A. Khronichnyi hastroduodenit u ditei i pidlitkiv (chastina 2) (lekcia). Dytiachyi likar. 2012; 8(21): 13-16. [in Ukrainian]
5.Gorovoy L, Senyuk O, Beketova G, Savichuk N, Tarasenko A, Savichuk A, Alexeenko N, Senyuk K, Bulgakova I. Treatment of Helicobacter, Herpes and Candida infections of the digestive tract. Chitosan in pharmacy and chemistry. Italy. 2002; 151-155. [in Ukrainian]
6.Parkhomenko LK, Strashok LA, Zavelia EM, Isakova MYu, Yeshchenko AV, Polishchuk ZhV. Struktura ta henderni osoblyvosti patolohiyi verkhnikh viddiliv travnoho traktu u pidlitkiv. Suchasna hastroenterolohiya. 2016; 5(91):34-39. [in Ukrainian]
7.Shabalov NP, redaktor. Detskaia gastroenterologiya: rukovodstvo dlya vrachey. Moskva: MEDpress-inform; 2011. 736 s. [in Russian]
8.Tiazhka OV, Bobrova VI, Zadorozhna TD, Archakova TM. Znachennia pokaznykiv vidnovlennia v patohenezi khronichnoi hastroduodenalnoyi patolohiyi u ditey. Suchasna hastroenterolohiya. 2011; 2(58):39-45. [in Ukrainian]

Реферати

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОЦЕССЫ РЕПАРАЦИИ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКУЮ ЗАЩИТУ СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА У ПОДРОСТКОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ГАСТРОДУОДЕНИТАМИ

Бекетова Г.В., Гичка С.Г., Нехаенко М.И., Гоголь Н.И., Горячева И.П., Солдатова О.В., Алексеенко Н.В.

В статье авторами представлены результаты патогистологического и иммуногистохимического исследования биоптатов СОЖ у подростков с ХГД на фоне инфицирования H.p., на фоне ХК пищевартельного (ПТ), при сочетании инфекционных факторов и при отсутствии ассоциации с инфекционными агентами. Особенностями процессов репарации СОЖ у подростков с ХГД являются: активность маркера макрофагов CD68 в собственной пластинке (СП) в месте ее диффузной инфильтрации при H.p.-инфицировании; при ассоциированном инфицировании – в лимфоидных фолликулах; при ХК ПТ – в поверхностном эпителии и диффузных инфильтратах СП; при отсутствии инфицирования – в единичных клетках СП. Активность маркера пролиферации Кі-67 обнаружена в поверхностных железах и СП в месте диффузной инфильтрации у пациентов I группы; во II группе – в лимфоидных фолликулах и поверхностных железах; в III группе – в месте диффузной инфильтрации СП, поверхностных и глубоких железах, в IV группе – в клетках поверхностного эпителия. Молекулярные механизмы воздействия инфекционных агентов и их взаимодействия с компонентами врожденного иммунитета и соответствующей клеточной реакцией местной иммунной системы у подростков с ХГД на фоне ХК ПТ отражается в повишении показатей экспрессии TLR2 и TLR4 и распространенности на эпителии, в СП и железах, что может свидетельствовать о потенцировании возбуждения рецепторов. Отношение степени экспрессии TLR4 / TLR2 более 1,0 обнаружено у больных с ХГД, ассоциированным с H.p., менее 1,0 - при наличии ХК ТТ, что свидетельствует не только о наличии, но и выраженности инфицирования. Полученные результаты подтверждают патогенетическую роль грибов рода Кандида в формировании и более тяжелом течении ХГД у подростков как при моно-, так и ассоциированном инфицировании. Указанное необходимо учитывать при создании программы дифференцированного лечения с целью достижения устойчивой ремиссии ХГД, эрадикации инфекционных агентов, адекватной репарации и восстановления антиинфекционной резистентности СО ПТ.

Ключевые слова: подростки, хронический гастродуоденит, хеликобактериоз, хронический кандидоз, CD68, Кі-67, TLR2, TLR4.

Стаття надійшла 10.06.18 р.

MOLECULAR MECHANISMS OF THE INFECTIOUS FACTORS INFLUENCE ON THE PROCESSES OF REPARATION AND NON-SPECIFIC PROTECTION OF THE GASTRIC MUCOSA IN ADOLESCENTS WITH CHRONIC GASTRODUODENITIS

Beketova H.V., Hychka S.H., Nekhayenko M.I., Horgol N.I., Horyacheva I.P., Soldatova O.V., Alekseyenko N.V.

In the article, authors present the results of pathohistological and immunohistochemical study of the gastric mucosa (GM) biopsy in adolescents with chronic gastroduodenitis (CGD) with helicobacteriosis, chronic candidiasis (CC) of the digestive tract (DT), and their combinations, without association with infectious agents. The peculiarities of the reparation processes in GM of adolescents with CGD are: the activity of the CD68 macrophages marker in the lamina propria (LP) in the place of its diffuse infiltration in case of infiltration; with associated infections – in lymphoid follicles; in CC DT – in superficial epithelium and diffuse infiltrate of LP; in the absence of infection – in single cells of the H.p. The activity of the Ki-67 proliferator marker was detected in surface glands and LP in the place of diffuse infiltration in patients of group I; in group II– in lymphoid follicles and superficial glands; in group III – in the place of diffuse infiltration of the LP, superficial and deep glands, in group IV – in the cells of the superficial epithelium. Molecular mechanisms of the pathogens influence and their co-operation with components of congenital immunity and corresponding cellular reaction of the local immune system in adolescents with CGD against the background of CC of GIT shows the highest expression of TLR2 and TLR4 and prevalence of the epithelium, LP and glands, which can testify excitation of receptors. Relation of TLR4/TLR2 expression degree of more than 1.0 was found in patients with CGD associated with H.p., less than 1.0 – in the presence of CC GIT, showing not only the presence but also the severity of the infection. The obtained results confirm the pathogenic role of the Candida genus fungi in the formation and more severe course of CGD in adolescents both in mono- and associated infections. This should be taken into account in creating a program of differentiated treatment in order to achieve a stable remission of CGD, eradication of infectious agents, adequate reparation and restoration of anti-infectious resistance of the GIT mucosa.

Key words: adolescents, chronic gastroduodenitis, helicobacteriosis, chronic candidiasis, CD68, Ki-67, TLR2, TLR4.

Рецензент Квашніна Л.В.