

© Коллектив авторов, 2014
УДК 616.37-002-06:612.112.94

Д. Ю. Семёнов, З. Х. Османов, А. Г. Тоноян, Л. Г. Шапкина, А. В. Соколов,
М. В. Горчакова

РЕЗУЛЬТАТЫ ДИНАМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ МЕЛАТОНИНА В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ НЕТЯЖЁЛОГО И ТЯЖЁЛОГО ТЕЧЕНИЯ

Кафедра общей хирургии с клиникой (зав. — проф. Д. Ю. Семёнов), Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

Ключевые слова: острый панкреатит, мелатонин, экспрессия рецепторов мелатонина

Введение. Медицинская и социально-экономическая значимость проблемы острого панкреатита обусловлена продолжающимся ростом заболеваемости [7]. Больные с острым панкреатитом (ОП) составляют 10% от общего количества пациентов хирургического профиля. На фоне увеличения числа больных с ОП прослеживается тенденция к возрастанию доли деструктивных форм, что, по данным некоторых авторов, составляет 15–25% госпитализированных пациентов [8]. Стабильно высокий уровень летальности (до 30%) при ОП обусловлен сложным, многоуровневым патогенезом заболевания, при этом некоторые механизмы реализации патологических реакций остаются неясными до настоящего времени [1]. Возможность прогнозирования тяжести течения ОП на самых ранних стадиях приобретает особую важность для своевременного проведения необходимых лечебных мероприятий [2].

Одним из факторов, препятствующих развитию деструкции ткани поджелудочной железы, является мелатонин. В настоящий момент уже доказан рецептор-опосредованный механизм противовоспалительного эффекта мелатонина. В экспериментах на животных было доказано, что при взаимодействии мелатонина с рецепторами II типа запускается каскад биохимических реак-

ций, который за счёт вазодилатации и улучшения кровотока, а также повышения устойчивости клеточной стенки к продуктам перекисного окисления липидов инициирует противовоспалительный механизм в ткани поджелудочной железы [6]. В то же время, имеются данные о том, что воздействие мелатонина на мелатонин₁ (MT₁)-рецепторы приводит к хронизации панкреатита вследствие ухудшения регионарного кровообращения [4].

Различные исходы ОП при сходных начальных проявлениях могут быть патогенетически обусловлены качеством и количеством рецепторов I и II типов (MT₁ и MT₂) к мелатонину, их соотношением и активацией эндогенным мелатонином, что может стать основой для построения динамического прогноза данного заболевания.

Материал и методы. Проведенным нами клиническим исследованиям предшествовали экспериментальные, при которых выявлялась экспрессия рецепторов мелатонина в лимфоцитах и панкреатоцитах биоптатов поджелудочной железы крыс. Установлено, что у всех животных отмечается равное соотношение MT-рецепторов в лимфоцитах и панкреатоцитах, что позволило представленную методику изучения экспрессии рецепторов мелатонина в лимфоцитах крови использовать в клиническом исследовании.

В рамках нашего исследования были обследованы 102 пациента с ОП различной степени тяжести. Соотношение мужчин и женщин — 65:37. Средний возраст пациентов — (44,5±3,2) года. Все больные находились на лечении в клинике общей хирургии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова и на хирургическом отделении № 1 больницы Св. Георгия в период с 2009 по 2013 г.

Сведения об авторах:

Семёнов Дмитрий Юрьевич (e-mail: semenov_du@mail.ru), Османов Зейнур Худдусович (e-mail: zhosmanov@mail.ru), Тоноян Андраник Гегамович (e-mail: dr_tonoyan@mail.ru), Шапкина Любовь Геннадьевна (e-mail: lyuba-sh@yandex.ru), Соколов Алексей Викторович (e-mail: abiochem@yandex.ru), Горчакова Маргарита Валерьевна (e-mail: rita_gorchakova@mail.ru), кафедра общей хирургии с клиникой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8

Таблица 1

Результаты средних значений экспрессии рецепторов мелатонина в лимфоцитах крови (M±m)

Рецептор	Здоровые люди (%)	Острый панкреатит	
		Тяжёлое течение (%)	Нетяжёлое течение (%)
MT ₁	70,54±4,03	52,77±7,04	53,73±4,63
MT ₂	71,84±4,19	42,93±6,88	60,63±7,04

Таблица 2

Результаты средних значений показателя MT₂/MT₁ в лимфоцитах крови в динамике у пациентов с ОП и здоровых добровольцев (M±m)

Сутки от момента поступления	Острый панкреатит		Здоровые добровольцы (n=50)
	Нетяжёлое течение (n=55)	Тяжёлое течение (n=47)	
1-е	1,09±0,08	0,80±0,16	1,02±0,02
4-е	1,12±0,07	0,79±0,08	—
7-е	1,17±0,09	0,81±0,12	—

Диагноз ОП ставился на основании данных осмотра больного и результатов динамической клинко-лабораторной и инструментальной диагностики.

Из исследования исключались больные с любым вариантом желчнокаменной болезни, другими поражениями общего желчного протока и большого дуоденального сосочка, так как у таких пациентов ОП мог представлять билиарную форму, которая этиологически и патогенетически отличается от токсикогенной формы заболевания. При оценке полученных в ходе исследования результатов мы придерживались Международной классификации острого панкреатита, принятой в Атланте в 1992 г. [5].

Исследование содержания мембранных рецепторов мелатонина в лимфоцитах выполнялось в динамике: в 1-, 4-е и 7-е сутки с момента поступления больного в хирургический стационар. Кровь получали из кубитальной вены в промежутке времени между 10.00 и 12.00 утра в объёме не менее 1,0 мл. Транспортировка и хранение полученных образцов осуществлялись в герметичных пробирках (вакутейнерах) с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) при температуре не более 4 °C.

Определение содержания рецепторов мелатонина в клетках крови осуществлялось при помощи метода непрямой иммунофлуоресценции. Выделяется фракция лимфоцитов центрифугированием на градиенте плотности, после чего выделенные клетки конъюгируются с антителами первого слоя, а те, в свою очередь, взаимодействуют со «сшитыми» с флуоресцентной меткой антителами второго слоя. Количественный анализ экспрессии интересующих нас маркёров проводился в проточном цитофлуориметре «Beckman Coulter FC 500» [3].

Экспрессия рецепторов мелатонина выражается в процентах от общего количества клеток лимфоцитарной популяции. С целью универсализации проводимой методики в качестве прогностического маркёра выбрано соотношение MT₂/MT₁.

Для сравнительной оценки экспрессии MT-рецепторов в лимфоцитарных клетках крови людей, не страдающих заболеваниями поджелудочной железы и других органов пищеварительной системы, были обследованы 50 добровольцев из числа жителей Санкт-Петербурга, которые в дальнейшем составили контрольную группу. Все добровольцы на момент исследования были условно здоровы, в течение предшествующего месяца не страдали острыми воспалительными заболеваниями и не имели в анамнезе патологии поджелудочной железы. В качестве скрининга им выполнены все вышеописанные исследования, что и больным с ОП.

Результаты и обсуждение. У больных с острым панкреатитом наблюдается снижение экспрессии MT₁- и MT₂-рецепторов в лимфоцитах крови по сравнению со здоровыми добровольцами (p<0,05). Снижение экспрессии MT₁-рецепторов на 24–25% характерно для всех пациентов с ОП. У здоровых добровольцев значения экспрессии MT₁- и MT₂-рецепторов равны (табл. 1).

У больных с ОП тяжёлого течения наблюдается снижение экспрессии MT₂-рецепторов на 40% на фоне общего снижения экспрессии рецепторов мелатонина. У пациентов с ОП нетяжёлого

течения снижение экспрессии MT₂-рецепторов не столь значимое — на 15,5%. Минимальные значения экспрессии MT₂-рецепторов характерны для больных с ОП тяжёлого течения — 35,6; тогда как максимальные значения составляют 78,3 при ОП нетяжёлого течения.

Для пациентов с ОП тяжёлого течения характерно снижение индекса MT₂/MT₁<1 по сравнению с контрольной группой (p<0,05), причём в динамике этот показатель не претерпевает существенных изменений (p>0,05). Это обусловлено резким снижением экспрессии MT₂-рецепторов у таких больных (табл. 2).

В группе пациентов с нетяжёлым течением ОП отмечается повышение индекса MT₂/MT₁>1 по сравнению с контрольной группой (p<0,05) за счёт общего снижения экспрессии MT-рецепторов и незначительного снижения экспрессии MT₂-рецепторов. В динамике этот показатель также существенно не меняется. Средние значения показателя MT₂/MT₁ при ОП нетяжёлого течения составляют 1,13±0,09, а при тяжёлом течении — 0,81±0,09.

Выводы. 1. У пациентов с деструктивными формами ОП отмечается снижение экспрессии MT₂-рецепторов в лимфоцитах крови.

2. Выявлена корреляция индекса MT₂/MT₁ с тяжестью ОП. Данный показатель не меняется в течение первой недели заболевания, что позволяет использовать его в качестве прогностического

маркёра развития деструктивных форм ОП на момент поступления больного в стационар.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Винник Ю.С., Миллер С.В., Теплякова О.В. Совершенствование дифференциальной диагностики и прогнозирования течения деструктивных форм острого панкреатита // Вестн. хир. 2009. № 6. С. 16–20.
2. Лысенко М.В., Девятков А.С., Урсов С.В. и др. Острый панкреатит: дифференцированная лечебно-диагностическая тактика. М.: Литтерра, 2010. С. 10–11.
3. Aust S., Jäger W., Kirschner H. et al. Pancreatic stellate/myofibroblast cells express G-protein-coupled melatonin receptor 1 // Wien. Med. Wochenschr. 2008. Vol. 158, № 19–20. P. 575–578.
4. Bradley E.L. The necessity for a clinical classification of acute pancreatitis: the Atlanta system. In: E.L. Bradley (edit.). Acute pancreatitis: diagnosis and therapy. New York: Raven Press, 1994, Vol. 4. P. 27–32.
5. Jaworek J., Konturek J.S., Leja-Szpak A. et al. Role of endogenous melatonin and its MT₂ receptor in the modulation of caerulein-induced pancreatitis in the rat // J. Physiol. Pharmacol. 2002. Vol. 53. P. 791–804.
6. Mayerle J., Hlouschek V., Lerch M.M. Current management of acute pancreatitis // Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol. 2005. Vol. 2, № 10. P. 473–483.
7. Pitchumoni C.S., Patel N.M., Shah P. Factors influencing mortality in acute pancreatitis: can we alter them? // J. Clin. Gastroenterol. 2005. Vol. 39, № 9. P. 798–814.
8. (Roit A.) Ройт А., Бростофф Д., Мейл Д. Иммунология: Пер. с англ. М.: Мир, 2000. 582 с.

Поступила в редакцию 20.09.2013 г.

D.Yu. Semyonov, Z.H. Osmanov, A.G. Tonoyan,
L.G. Shapkina, A.V. Sokolov, M.V. Gorchakova

RESULTS OF DYNAMIC ASSESSMENT OF MELATONIN RECEPTOR EXPRESSION IN LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH ACUTE MILD AND SEVERE PANCREATITIS

Department of general surgery, clinic of Pavlov First State Medical University, Saint-Petersburg

The authors present results of the investigation of melatonin receptors expression in lymphocytes in dynamics in 102 patients with acute pancreatitis of mild and severe form and in 50 volunteers. A correlated analysis was made between obtained results of laboratory and instrumental researches and clinical course of acute pancreatitis. The decrease of MT₁ receptors expression was noted on 25% in patients with acute pancreatitis. The decline of MT₂ receptors expression was observed on 40% of patients with acute severe pancreatitis and in a case of acute mild pancreatitis — on 15,5%, respectively. Values of MT₁ and MT₂ expression were equal between healthy volunteers. The decline of MT₂ expression was a prognostic unfavourable sign. Obtained results of dynamic expression assessment of MT-receptors were presented as MT₂/MT₁ indices. Given index didn't change during disease, because of this, the index could be used as a prognostic development marker of destructive form of acute pancreatitis at the moment of patient's admission to hospital. Mean values of MT₂/MT₁ were determined for the purpose of universalization of used method (1,13±0,09 for mild form and 0,81±0,09 for severe form of acute pancreatitis, respectively).

Key words: *acute pancreatitis, melatonin, melatonin receptors expression*