ем. Несостоятельность линии степлерного шва возникает от 1% до 20% пациентов после рукавной резекции желудка. Существует много публикаций касающиеся лечения несостоятельности, но нет единого алгоритма лечения данного осложнения. Цель данного исследования – определить успех эндоскопического стентирования у пациентов с несостоятельностью степлерного шва желудочной трубки после рукавной резекции желудка. Проанализированы результаты хирургического лечения 246 пациентов с морбидным ожирением. Средний возраст составил 43,5±13,7 года (98 мужчин и 148 женщин). Средний вес составлял 147,8±34,3 (106-246) кг. Средний индекс массы тела составил 46,3±11,6 (35-81,5) кг/м^2. Средний избыток массы тела 79,3±36,3 (46-169) кг. Несостоятельность степлерного шва желудочной трубки является наиболее грозным осложнением с точки зрения сложности диагностики, профилактики и лечения. Несостоятельность возникла у 6 (2,4%) пациентов. Диагноз был подтвержден рентгеновской гастрографией с урографином, фиброэзофагогастроскопией и компьютерной томографией. Время диагностики несостоятельности степлерного шва желудочной трубки у 1 пациента составило 10 часов, у 5 пациентов – 78,8±59,1 (24-120) часов. При диагностике осложнения в первые 6-12 часов с момента его возникновения оправдана тактика ушивания дефекта. В случае пролонгации диагностики более 12 часов очевидны преимущества тактики стентирования по сравнению с попытками ушивания дефекта. Хотя постановка стента вызывает дискомфорт у пациентов и требует эндоскопических навыков, очевидно, что сокращается время заживления и пребывание в больнице пациентов с несостоятельностью желудочной трубки после рукавной резекции желудка.

Ключевые слова: ожирение, рукавная резекция желудка, несостоятельность степлерного шва желудочной трубки, стентирование желудочной трубки.

STENTING OF THE GASTRIC TUBE WHEN THE GASTRIC LEAK AFTER SLEEVE GASTRECTOMY

Slabkiy G. O., Usenko O. Y., Todurov I. M., Perekhrestenko O. V., Kalashnikov O. O., Kosiukhno S. V., Yakimets V. M., Tereshkevich I. S.

Abstract. The World Health Organization has described obesity as the greatest current threat to human health. Bariatric surgery is considered to be the most effective option for treatment obesity and related comorbidities. Sleeve gastrectomy is a recently developed technique for treating morbid obesity. Despite the low morbidity and mortality rates associated with sleeve gastrectomy, several perioperative complications may arise including bleeding, hernia, leaks and strictures. Among these conditions, leak is the most serious and feared complication following the procedure. Gastric leak is occur in 1% to 20% of patients after sleeve gastrectomy. A lot of publications exist concerning the treatment of gastric leak, but there is no single algorithm. The objective of our study was to determine the success of endoscopically stents in patients with staple line leaks after sleeve gastrectomy. The results of surgical treatment of 246 patients with morbid obesity are analyzed. Mean age was 43,5±13,7 years. There were 98 male and 148 female patients. Mean weight was 147,8±34,3 (106-246) kg. Mean initial body mass index was 46,3±11,6 (35–81,5) kg/m^2. Mean excess of mass 79,3±36,3 (46-169) kg. Failure of the gastric tube stapler suture is to be the most threatening complication due to the difficulty of diagnosis, prevention and treatment. Staple line leaks occurred in six patients (2,4%). The diagnosis was confirmed by X-ray gastrography with urografin, upper gastrointestinal endoscopy and computed tomography scan. The time of diagnosis of gastric leak in 1 patient is 10 hours, in 5 patients – 78,8±59,1 (24-120) hours. After the diagnosis of complications in the first 6-12 hours of its occurrence the tactic of suturing the defect is reasonable. In case of extension of the diagnosis over 12 hours advantages of stenting tactics in comparison with the attempt to suture the defect are obvious. Although stent placement causes discomfort to the patient and needs advanced endoscopic skills in long-term it is apparent that it decreases healing time and hospital stay for the patients with gastric leak after sleeve gastrostomy.

Key words: obesity, sleeve gastrectomy, stapler suture failure of the gastric tube, stenting of the gastric tube.

Рецензент – проф. Малик С. В.

Стаття надійшла 23.08.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2018-3-1-145-181-187

УДК 612.017.11:616.832-004.2

Тупотілов О. В., Коляда Т. І.

ЦИТОКІНОГЕНЕЗ ПРИ TLR-ОПОСЕРЕДКОВАНІЙ АКТИВАЦІЇ МОНОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ З РОЗСІЯНИМ СКЛЕРОЗОМ

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» (м. Харків)

labimmun@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках НДР «Удосконалення методів прогнозування ефективності лікування пацієнтів з розсіяним склерозом за імунологічними та генетичними маркерами» (№ державної реєстрації 0117U002284) лабораторії клінічної імунології та алергології Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України».

Вступ. Розсіяний склероз (РС) – аутоімунне нейродегенеративне захворювання, яке характеризується залученням більшості типів імунокомпетентних клітин на різних етапах прогресування. РС є опосередкованим Т-лімфоцитами захворюванням, проте ключові ролі в патогенезі відіграють також клітини мієлоїдного походження [1]. Поряд з активацією клітин мікроглії найважливішим механізмом ініціації і підтримки запалення в центральній нервовій системі є інфільтрація периферичних моноцитів в тканину мозку з подальшим їх перетворенням в активовані макрофаги і дендритні клітини [2,3]. Показано, що активні вогнища демієлінізації при розсіяному склерозі містять велику кількість макрофагів і моноцитів, які беруть безпосередню участь в фагоцитозі мієлінових оболонок, а також продукують численні фактори, що сприяють їх деградації. Периферичні моноцити беруть також участь у формуванні прозапального контексту по обидва боки гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), процесах антігенпрезентації і костімуляції, активації і диференціюванні лімфоцитів, сприяють проникненню активованих лімфоцитів через ГЕБ, а також мають широкий спектр регуляторних функцій [1-3].

Останнім часом отримано нові дані, які свідчать про те, що моноцити периферичної крові є функціонально і фенотипово гетерогенною групою клітин, ролі яких в імунній оркестровці при РС суттєво розрізняються [4,5]. Найчастіше серед моноцитів людини виділяють три основних субпопуляції – «класичні», «проміжні» та «некласичні» моноцити [6-8]. «Класичні» CD14++CD16- моноцити спеціалізуються на фагоцитозі, експресують скавенджер-рецептори, поверхневі молекули CD62L, CCR2, CXCR1 та CXCR2, їх відносна кількість у периферичній крові здорових людей складає приблизно 85%. Показано, що у відповідь на стимуляцію Toll-подібного рецептору (TLR) 4 типу за допомогою ліпополісахариду (ЛПС), клітини цієї субпопуляції здатні продукувати значну кількість G-CSF, CCL2, RANTES, IL-6, IL-8 та IL-10. «Проміжні» CD14+CD16+ моноцити є основними продуцентами активних форм кисню, беруть участь в ангіогенезі, антігенпрезентації, активації і диференціювання лімфоцитів, експресують на поверхні CD74, CD105, CD202b, HLA-DR та ін. маркери. Відносна кількість «проміжних» моноцитів у здорових донорів – 5%, а ЛПС-стимуляція призводить до підвищення продукції переважно IL-6 та IL-8. Кількість «некласичних» моноцитів з фенотипом CD14+CD16++ в периферичній крові – 10%. Ці клітини розглядаються як «патрулюючі», та поряд з «проміжними» моноцитами здатні активувати Т-лімфоцити. «Некласичні» моноцити експресують молекули CD43, SLAN, SLG2 – ліганду CD52, та продукують TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8 у відповідь на ЛПС [7,8]. У той самий час існує багато свідчень про існування функціонального спектра моноцитів і про те, що зв'язок між функціональними особливостями клітин і їх фенотипом не є достатньо консервативним та здатен суттєво варіюватись як в фізіологічних умовах, так й при патології. Прийняті визначення фенотипів «класичних», «проміжних» та «некласичних» моноцитів піддаються критиці за невідповідність функціональним особливостям клітин в складі цих субпопуляцій, зокрема продукції цитокінів [7]. Показано, що «класичні», «проміжні» і «некласичні» моноцити мають відмінності не тільки у функціональних властивостях, але й профілях експресії, здатності до активації у відповідь на стимуляцію MyD88-залежніх TLR різних типів, зокрема TLR4 та TLR7/8 [8]. Відомо, що TLR4 відіграє важливу роль у розвитку запалення та є частиною одного з найдревніших сигнальних механізмів вродженого імунітету [9-11], показана також важлива роль TLR7/8-сигналінгу в розвитку нейрозапальних процесів [11-13].

У крові здорових людей підтримується фізіологічне співвідношення між субпопуляціями моноцитів, що може змінюватися при патологічних станах [14]. Роль окремих субпопуляцій у формуванні та поповненні пулу мононуклеарних фагоцитів в ЦНС до теперішнього часу є недостатньо визначеною [5,15]. Відомо також, що запальні та регуляторні цитокіни, що продукуються моноцитами, зокрема TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, широко залучені в імунопатологічні процеси, але їх патогенетична роль і механізми регуляції при різних типах перебігу РС наразі є предметом активних досліджень [11,15-21]. Окрема увага приділяється пара- та аутокринним механізмам регуляції активності цитокинів, наприклад стану системи IL-1β та розчинного рецепторного антагоніста IL-1 (IL-1RA). Патологічне зниження співвідношення IL-1RA/IL-1β може свідчити про недостатність протизапальної регуляції [17,19].

Отже, аналіз здатності моноцитів периферичної крові до активації при стимуляції TLR4 та TLR7/8, зокрема особливостей цитокіногенезу, є важливим для характеристики змін у функціональному стані цих клітин при РС, розуміння їх ролі у патогенезі захворювання при рецидивному і прогресуючих типах перебігу захворювання.

Метою дослідження було визначити відмінності у TLR4- та TLR7/8-опосередкованій активації клітин моноцитарної фракції периферичної крові на підставі аналізу продукції TNF-α, IL-1β, IL-1RA, IL-6, IL-10 та IL-12p70 in vitro у пацієнтів з рецидивно-ремітуючим та прогресуючим РС.

Об'єкт і методи дослідження. Під час дослідження було обстежено 48 хворих з розсіяним склерозом, мешканців м. Харкова та Харківської області, серед них 22 чоловіків та 26 жінок середнім віком 35,0 (27,5; 46,25) та 40,0 (32,5; 49,0) років відповідно, а також 27 практично здорових осіб (контрольна група) обох статей з середнім віком 32,0 (29,5; 36,5) роки. Критерієм включення в дослідження була наявність верифікованого діагнозу «розсіяний склероз» відповідно наказу МОЗ України № 487 від 17.08.2007 р. «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Неврологія»» (код G35 за МКХ-10 – Розсіяний склероз), а також відсутність терапії з використанням препаратів, що модифікують перебіг хвороби, в період півроку до проведення обстеження. Пацієнтів було поділено на дві групи за типом перебігу РС: група РРС з 25 осіб з рецидивно-ремітуючим РС та група ПРС з 23 осіб з прогресуючим РС, до якої було включено пацієнтів з первинно-прогресуючим та вторинно-прогресуючим типом перебігу РС. Пацієнти знаходились на амбулаторному та стаціонарному лікуванні у відділі нейроінфекцій та розсіяного склерозу Державної установи «Інститут неврології, психіатрії та наркології Національної академії медичних наук України». Всі пацієнти, які взяли участь в дослідженні дали добровільну письмову згоду на участь в дослідженні.

Експеримент in vitro включав до себе виділення клітин моноцитарної фракції мононуклеарів периферичної крові з подальшим культивуванням у трьох паралельних серіях: інтактних клітин; з додаванням стимулятору TLR4; з додаванням стимулятору TLR7/8. В якості стимулятора TLR4 використовували ЛПС E. Coli, а в якості стимулятора TLR7/8 – ssRNA40/LyoVec, що являє собою комплекс збагаченого гуаніном та урацилом фосфотіоат-модифікованого рібоксіолігонуклеотиду та катіонного ліпіду. Завдяки модифікаціям цей препарат одноланцюгової РНК є стійким до дії нуклеаз, що дозволяє використовувати його в якості індуктора цитокіногенезу при довготривалому культивуванні клітин.

Виділення клітин моноцитарної фракції мононуклеарів периферичної крові проводили з використанням подвійного градієнту перколлу (Sigma, США) за методикою [22], адаптованою до малих об'ємів крові. Життєздатність клітин після забарвлення трипановим синім становила не менше 98%. Кількість моноцитів у суспензії визначали імунофлуоресцентним методом з використанням anti-CD14 (EXBIO Praha, a.s., Чехія), мічених фікоеритрином. Культивування виділених клітин моноцитарної фракції периферичної крові проводили в 96-лунковому планшеті. Збагачену моноцитами суспензію клітин ресуспендували повним середовищем RPMI з додаванням 1 мкг/мл ЛПС E. Coli або ssRNA40/LyoVec (Invivogen, США) до отримання кінцевої концентрації клітин в лунках планшету $1x10^5$ кл./мл та кінцевого об'єму 0,2 мл, після чого інкубували протягом 24 годин при t=37ºС при атмосфері 5% CO_2. Визначення вмісту TNF-α, IL-1β, IL-1RA, IL-6, IL-10 в культуральних супернатантах, здійснювали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням сертифікованих в Україні тест-систем виробництва ЗАТ «Вектор-Бест» (Російська Федерація), IL-12p70 – тест-системи виробництва eBioscience (США) за допомогою імуноферментного аналізатора Stat-Fax 303 (США) згідно з інструкціями виробника. Для кожної експериментальної серії розраховували коефіцієнт співвідношення (КС) продукції IL-1RA та IL-1β, $КС_{INT}$, $КС_{LPS}$ та $КС_{RNA}$. Для серій з додаванням ЛПС та ssRNA40/LyoVec також розраховували показник резервної здатності (RCi) моноцитів до стимульованої продукції кожного з цитокінів – як відношення вмісту цитокіну у серії з додаванням відповідного стимулятора та серії з інтактними клітинами (RCi_{LPS} та RCi_{RNA}). Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програм STATISTICA 11.0 (StatSoft, Inc) та XLSTAT 19.6 (Addinsoft). Для визначення достовірності відмінностей між показниками в досліджуваних вибірках використовували U-критерій Манна-Уітні. У якості критерію вірогідності відмінностей показників було обрано рівень значимості p<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. Дані щодо вмісту цитокинів в супернатантах у експериментальних серіях клітин моноцитарної фракції мононуклеарів периферичної крові пацієнтів з рецидивно-ремітуючим та прогресуючим типом перебігу РС, а також здорових осіб контрольної групи представлені у **таблиці.**

Встановлено, що резервна здатність моноцитів до продукції TNF-α у пацієнтів з РС була нижче ніж у здорових осіб. Значення RCi_{LPS} було в 3,3 рази нижче показнику контрольної групи (35,1 ± 13,7 од. проти 117,3 ± 26,2 од., p<0,05) у пацієнтів з рецидивним типом перебігу РС, та в 3,7 рази нижче показнику у пацієнтів з прогресуючим типом перебігу захворювання (32,0 ± 14,1 ум. од., p<0,05 відносно контролю). Аналогічна картина спостерігалася при додаванні в якості індуктора ssRNA40/LyoVec – значення RCi_{RNA} в групах РРС та ПРС, а також контрольній групі складало 42,2 ± 13,5 од., 39,6 ± 10,3 од. та 138,4 ± 40,1 од. відповідно (p<0,05 при порівнянні з контрольною групою).

Показник RCi_{LPS} при стимуляції IL-1β у контрольній групі дорівнював 56,6 ± 14,7 од., а в групах РРС та ПРС був достовірно знижений відносно контролю в 8,0 та 4,8 рази відповідно та дорівнював 7,1 ± 1,5 од. в групі РРС й 11,7 ± 2,9 од. в групі ПРС. Стимуляція продукції IL-1β при інкубуванні моноцитів з додаванням ssRNA40/LyoVec була більш вираженою в групі пацієнтів з прогресуючим типом перебігу РС (p<0,05 при порівнянні з контролем). При цьому показники RCi_{LPS} та RCi_{RNA} мали достовірні відмінності як між групами РРС та ПРС, так й між групами хворих та контролем. RCi_{RNA} в групі ПРС був в 1,9 рази вище за показник в групі РРС (18,9 ± 3,9 од. та 9,8 ± 2,8 од. відповідно, p<0,05 при порівнянні між групами хворих), та в 3,4 рази нижче за показник в контрольній групі (64,8 ± 20,1 од., p<0,05 при порівнянні між групами РРС та контролем). В групі пацієнтів з рецидивним типом РС RCi_{RNA} був знижений відносно показника у контролі ще сильніше – в 6,6 рази. Показники RCi_{LPS} та RCi_{RNA} щодо продукції IL-1β в контрольній групі не мали достовірних відмінностей між собою.

Згідно даним літератури у здорових осіб TNF-α продукується переважно «проміжними» і «некласичними» моноцитами [7,23]. В дослідженні [8] ізольовані «некласичні» моноцити демонстрували низьку здатність продукувати TNF-α та IL-1β у відповідь на стимуляцію TLR4, однак стимуляція TLR7/8 викликала підвищену продукцію даних цитокінів, та навпаки, TLR4-стимуляція «проміжних» моноцитів підвищувала продукцію як TNF-α, так й IL-1β. В роботі [24] TLR4-стимуляція «проміжних» моноцитів in vitro також викликала підвищену продукцію TNF-α і IL-1β, а в [7] наведено дані щодо здатності «некласичних» моноцитів продукувати ці прозапальні цитокіни у відповідь на стимуляцію як TLR4, так і TLR7/8. В нашій роботі додавання агоністів TLR4 та TLR7/8 при культивуванні моноцитів здорових осіб призводило до вираженого підвищення продукції TNF-α та IL-1β. Стимуляція продукції IL-1β при додаванні ssRNA40/LyoVec в пацієнтів з прогресуючим типом перебігу РС була сильніша у порівнянні з ЛПС, що може бути пов'язано із зростанням внеску «некласичних» моноцитів до продукції цього цитокіну. Водночас у пацієнтів з РС резервна здатність моноцитів до стимульованої продукції TNF-α та IL-1β у відповідь на додавання ЛПС та препарат одноланцюгової РНК була зниженою відносно контролю, особливо у пацієнтів з рецидивним типом перебігу РС (p<0,05). Це може свідчити про зміни у субпопуляційному складі клітин-продуцентів цих цитокинів з одного боку, а з іншого – про «виснаження» цих клітин, наявність порушень MyD88-опосередкованого сигналинга та активації NF-κB.

Рівень рецепторного агоністу IL-1 при культивуванні інтактних клітин у хворих з прогресуючим РС був достовірно вище показнику здорових осіб (182,5 ± 62,0 пг/мл проти 63,4 ± 12,1 пг/мл), але не мав достовірних відмінностей від показнику у групі РРС (109,8 ± 41,7 пг/мл). Рівень ЛПС-індукованої продукції IL-1RA не мав відмінностей між групами, та складав 2538,5 ± 669,4 пг/мл в групі РРС, 1693,9 ± 504,8

Таблиця.

Вміст цитокинів у супернатантах після 24 год. культивування моноцитів периферичної крові, пг/мл (M ± m)

Показники	Серія	Групи пацієнтів		Контроль
		РРС	ПРС	
TNF-α	Інтактні	12,7 ± 9,4	15,5 ± 14,3	2,4 ± 0,9
	ЛПС	445,2 ± 234,0	495,3 ± 207,8	281,5 ± 60,2
	ssRNA	535,8 ± 310,5	614,2 ± 291,1	332,2 ± 51,7
IL-1β	Інтактні	94,7 ± 89,6	81,7 ± 76,0	6,6 ± 3,1
	ЛПС	676,3 ± 145,7	952,1 ± 390,3	376,1 ± 96,1
	ssRNA	924,2 ± 539,2	1541,7 ± 252,1*	430,5 ± 113,6
IL-6	Інтактні	7,5 ± 6,7	11,4 ± 10,5	18,3 ± 13,2
	ЛПС	1475,8 ± 821,2	2585,4 ± 1150,1*	810,1 ± 302,6
	ssRNA	841,2 ± 417,0	1148,0 ± 630,6	341,4 ± 191,5
IL-10	Інтактні	1,8 ± 0,7	2,3 ± 2,1	2,1 ± 1,6
	ЛПС	17,3 ± 5,1	12,0 ± 6,4	32,2 ± 9,6
	ssRNA	7,8 ± 2,6*	3,7 ± 1,1*	23,2 ± 7,1
IL-12p70	Інтактні	16,5 ± 4,2*,**	185,2 ± 94,5*,**	40,8 ± 11,4
	ЛПС	155,2 ± 32,7	171,4 ± 53,2	115,9 ± 27,8
	ssRNA	135,0 ± 50,3	217,7 ± 61,1	149,8 ± 33,0

Примітки: * – p<0,05 при порівнянні з контрольною групою;
** – p<0,05 при порівнянні між групами хворих.

пг/мл в групі ПРС та 1272,2 ± 493,6 пг/мл в контрольній групі. При додаванні ssRNA40/LyoVec рівень IL-1RA у хворих з РС був достовірно вище контролю (2732,4 ± 626,1 пг/мл в групі РРС, 4043,4 ± 892,7 пг/мл в групі ПРС, 904,0 ± 262,3 пг/мл в у здорових осіб).

В порівнянні з контролем показник RCi_{LPS} IL-1RA у хворих групи ПРС був знижений в 2,1 рази та складав 23,1 ± 6,0 од. в групі РРС, 9,3 ± 2,9 од. в групі ПРС, та 20,1 ± 8,2 од. у контрольні групі. При ssRNA40/LyoVec-індукції IL-1RA, показник резервної здатності в групах РРС та ПРС не мав відмінностей від показнику у контролі та складав 24,9 ± 5,8 од., та 22,2 ± 7,9 од. відповідно (14,3 ± 4,1 од. в контрольній групі). У пацієнтів з РС було також виявлено достовірне зниження $КС_{INT}$ відносно контролю. В групі РРС значення $КС_{INT}$ складало 1,2 ± 0,3 од., в групі ПРС – 2,2 ± 0,5 од., а у контрольній групі – 9,5 ± 1,8 од. Коефіцієнт співвідношення показників ЛПС-індукованої продукції IL-1RA та IL-1β у хворих з ПРС був достовірно зниженим відносно контролю (1,8 ± 0,2 од. проти 3,4 ± 0,8 од.). У пацієнтів групи РРС показник $КС_{ЛПС}$ складав 3,8 ± 0,6 од. При цьому показник $КС_{RNA}$ у пацієнтів групи РРС складав 3,0 ± 0,8 од., в групі ПРС – 2,6 ± 0,5 од., в контрольній групі – 2,1 ± 0,2 од (p>0,05 при порівнянні груп хворих та контролю, а також груп хворих між собою). Отже, знижене значення КС при культивуванні інтактних моноцитів, а також при додаванні агоністівTLR4 та TLR7/8 у хворих на РС може свідчити про порушення ауто- та паракрінної регуляції у системі IL-1RA/IL-1β, та розглядатися як один з патогенетичних механізмів формування прозапального контексту.

На відміну від TNF-α та IL-1β у пацієнтів з РС було виявлено достовірне відносно контролю збільшення резервної здатності моноцитів до продукції IL-6 при інкубації як з ЛПС, так і з ssRNA40/LyoVec. При цьому рівень ЛПС-індукованої продукції IL-6 у пацієнтів з прогресуючим РС був в 3,2 рази вище показника здорових осіб (p<0,05). Показник резервної здатності моноцитів до продукції IL-6 при інкубації з додаванням ЛПС в групі РРС був підвищений відносно показнику в контрольній групі в 4,4 рази й складав 196,8 ± 75,0 од. (проти 44,3 ± 21,2 од. в контрольній групі, p<0,05). В групі ПРС RCi_{LPS} також був в 5,1 рази вище показника здорових осіб (226,8 ± 102,1 од., p<0,05).

Інкубування клітин моноцитарної фракції мононуклеарів in vitro з додаванням а якості індуктора ssRNA40/LyoVec викликало менш виражене підвищення продукції IL-6 у всіх групах – RCi_{RNA} в групі РРС складав 112,2 ± 47,1 од., в групі ПРС – 100,7 ± 39,8 од, в контрольній групі – 18,7 ± 9,5 од. Отже показник RCi_{RNA} був достовірно підвищений відносно контролю як в групі РРС, так й в групі ПРС в 6,0 рази та в 5,4 рази відповідно.

Підвищений рівень IL-6 здатний як підсилювати синтез TNF-α та IL-1β моноцитами та класично активованими макрофагами, так й викликати активацію протизапальних механізмів у альтернативно активованих макрофагів, зокрема підвищення синтезу IL-10 та пригнічення продукції IL-1β, проявляючи таким чином «плейотропність» у регуляції цитокіногенеза моноцитами та макрофагами різних субпопуляцій [25-27]. Отримані нами дані свідчать про те, що порівняно з ЛПС використання в якості індуктора IL-6 препарату одноланцюгової РНК викликає менш виражений стимулюючий ефект щодо моноцитів здорових осіб та пацієнтів з РС та може вказувати на підвищений внесок «класичних» моноцитів в продукцію даного цитокіну.

Рівень ЛПС-індукованої продукції IL-10 в групах пацієнтів з РС не мав відмінностей від контролю на тлі помірного зниження показнику резервної здатності – в 1,6 рази в групі РРС (p>0,05) та 2,9 рази в групі ПРС (p<0,05). Показник RCi_{LPS} складав 9,6 ± 2,3 од., 5,2 ± 1,7 од. та 15,3 ± 5,4 од. у групах РРС, ПРС та контрольній групі відповідно. При ssRNA40-індукції вміст даного цитокіну в групах РРС та РРС був знижений відносно контролю в 3 та 6,3 рази відповідно (p<0,05). RCi_{RNA} при цьому був знижений в 2,6 рази в групі РРС (4,3 ± 1,3 од. проти 11,0 ± 3,3 од. в контрольній групі) та в 6,9 рази в групі ПРС (1,6 ± 0,6 од.), p<0,05. Отже найменший вплив агоніста TLR7/8 на продукцію IL-10 спостерігався при стимулюванні моноцитів, отриманих от хворих з прогресуючим типом перебігу РС. Ці данні можуть вказувати на переважання «класичних» моноцитів в продукції IL-10 як у здорових осіб, так й у пацієнтів з РС, що узгоджується з літературними даними [28]. Іншими авторами показана також здатність «проміжних» моноцитів продукувати значні кількості IL-10 у відповідь на стимуляцію TLR4 [29].

Рівень продукції IL-12p70 при культивуванні інтактних моноцитів хворих з розсіяним склерозом достовірно відрізнявся від контролю в обох групах. При цьому в групі РРС вміст цього цитокіну був в 2,5 рази нижче, а в групі ПРС – в 4,5 рази вище контролю. У групі РРС низькій рівень продукції IL-12p70 інтактними клітинами супроводжувався підвищеними відносно контролю значеннями RCi_{LPS} (9,4 ± 2,4 од. проти 2,8 ± 0,7 од. в контролі, $p<0,05$) та RCi_{RNA} (8,2 ± 3,1 од. проти 3,7 ± 0,8 од., $p>0,05$). У той же час в пацієнтів з прогресуючим типом перебігу захворювання стимуляція моноцитів за допомогою ssRNA40/LyoVec та ЛПС не призводила до достовірного підвищення продукції IL-12p70 (RCi_{LPS} = 0,9 ± 0,3 од., RCi_{RNA} = 1,2 ± 0,4 од.), що може свідчити про виснаження клітин-продуцентів IL-12 на тлі високої спонтанної продукції цього цитокіну.

Висновки. Дослідження TLR4- та TLR7/8-опосередкованої активації клітин моноцитарної фракції мононуклеарів периферичної крові пацієнтів з рецидивно-ремітуючим та прогресуючим типом перебігу РС виявило зниження співвідношення спонтанної продукції IL-1RA та IL-1β, підвищену резервну здатність до ЛПС- та ssRNA-індукованої продукції IL-6 на тлі зниженої резервної здатності до продукції TNF-α, IL-1β та IL-10 у порівнянні із показниками здорових осіб ($p<0,05$). При цьому резервна здатність моноцитів до ssRNA40/LyoVec-індукованої продукції IL-6 та IL-10 була нижче, а IL-1RA – вище порівняно із стимуляцією за допомогою ЛПС. Периферичні моноцити пацієнтів з рецидивно-ремітуючим РС характеризувалася також зниженою спонтанною продукцією IL-12p70 та підвищенням резервної здатності до ЛПС- та ssRNA40/LyoVec-індукованої продукції цього цитокіну. У пацієнтів з прогресуючим типом захворювання спостерігався високій рівень спонтанної продукції IL-12p70 та IL-1RA на тлі зниженої резервної здатності до стимульованої продукції IL-12p70. При TLR4-стимуляції в групі ПРС було визначено підвищення рівню IL-6, зниження резервної здатності до продукції IL-1RA та співвідношення індукованої продукції IL-1RA та IL-1β, а при TLR7/8-стимуляції – підвищення рівню IL-1β ($p<0,05$).

Таким чином отримані результати вказують на відмінності у стані цитокіногенезу при стимуляції TLR4 та TLR7/8 та можуть свідчити про наявність функціональних та фенотипових альтерацій моноцитів периферичної крові в залежності від типу перебігу РС.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження відмінностей цитокіногенезу при TLR-опосередкованій активації клітин моноцитарної фракції периферичної крові у хворих з РС потребують залучення удосконалених підходів до визначення популяційного складу клітин, а також аналізу експресії мРНК цитокинів. Це дозволить уточнити особливості функціонального стану моноцитів різних субпопуляцій та їх патогенетичну роль щодо розвитку та перебігу розсіяного склерозу.

Література

1. Goodin DS, editor. Handbook of Clinical Neurology: Multiple Sclerosis and Related Disorders. Elsevier B.V. 2014;122:736.
2. Mammana S, Fagone P, Cavalli E, Basile MS, Petralia MC, Nicoletti F, et al. The Role of Macrophages in Neuroinflammatory and Neurodegenerative Pathways of Alzheimer's Disease, Amyotrophic Lateral Sclerosis, and Multiple Sclerosis: Pathogenetic Cellular Effectors and Potential Therapeutic Targets. International Journal of Molecular Sciences. 2018;19(3):831. Available from: https://doi.org/10.3390/ijms19030831 (accessed 20 July 2018)
3. Baufeld C, O'Loughlin E, Calcagno N, Madore C, Butovsky O. Differential contribution of microglia and monocytes in neurodegenerative diseases. J. Neural. Transm. 2018;125(5):809-26. Available from: https://doi.org/10.1007/s00702-017-1795-7 (accessed 21 July 2018)
4. Iacobaeus E, Douagi I, Jitschin R, Marcusson-Ståhl M, Andrén AT, Gavin C, et al. Phenotypic and functional alterations of myeloid derived suppressor cells during multiple sclerosis disease course. Immunology and Cell Biology. 2018. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/imcb.12042 (accessed 7 July 2018)
5. Chuluundorj D, Harding SA, Abernethy D, La Flamme AC. Expansion and preferential activation of the CD14(+)CD16(+) monocyte subset during multiple sclerosis. Immunol Cell Biol. 2014;92:509-17. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1038/icb.2014.15 (accessed 15 March 2017)
6. Boyette LB, Macedo C, Hadi K, Elinoff BD, Walters JT, Ramaswami B, et al. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. PLoS ONE. 2017;12(4):e0176460. Available from: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176460 (accessed 22 April 2018)
7. Wong KL, Yeap WH, Tai JJY, Ong SM, Dang TM, Wong SC. The three human monocyte subsets: implications for health and disease. Immunol. Res. 2012;53:41-57. Available from: https://doi.org/10.1007/s12026-012-8297-3 (accessed 12 May 2018)
8. Cros J, Cagnard N, Woollard K, Patey N, Zhang SY, Senechal B, et al. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. Immunity. 2010;33:375–86. Available from: https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.08.012 (accessed 16 November 2017)
9. Gooshe M, Abdolghaffari A, Gambuzza M, Rezaei N. The role of Toll-like receptors in multiple sclerosis and possible targeting for therapeutic purposes. Reviews in the Neurosciences. 2014;25(5):713-39. Available from: https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0026 (accessed 1 July 2018)
10. Miranda-Hernandez S, Baxter AG. Role of toll-like receptors in multiple sclerosis. American journal of clinical and experimental immunology. 2013;2(1):75-93. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3714200/ (accessed 3 September 2016)
11. Deckx N, Willekens B, Wens I, Eijnde BO, Goossens H, Van Damme P, et al. Altered molecular expression of TLR-signaling pathways affects the steady-state release of IL-12p70 and IFN-a in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. Innate Immunity. 2016;22(4):266-273. Available from: https://doi.org/10.1177/1753425916642615 (accessed 15 August 2017)
12. Butchi NB, Pourciau S, Du M, Morgan TW, Peterson KE. Analysis of the Neuroinflammatory Response to TLR7 Stimulation in the Brain: Comparison of Multiple TLR7 and/or TLR8 Agonists. J. Immunol. 2008;180(11):7604-12. Available from: https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.11.7604 (accessed 4 July 2018)
13. Johnson TP, Tyagi R, Patel K, Schiess N, Calabresi PA, Nath A. Impaired toll-like receptor 8 signaling in multiple sclerosis. Journal of Neuroinflammation. 2013;10:74. Available from: https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-74 (accessed 7 July 2018)
14. Ka MB, Olive D, Mege JL. Modulation of monocyte subsets in infectious diseases. World J Immunol 2014;4(3):185-93. Available from: http://doi.org/10.5411/wji.v4.i3.185 (accessed 12 May 2018)
15. Kong BS, Kim Y, Kim GY, Hyun J, Kim S, Jeong A, et al. Increased frequency of IL-6-producing non-classical monocytes in neuromyelitis optica spectrum disorder. Journal of Neuroinflammation. 2017;14:191. Available from: https://doi.org/10.1186/s12974-017-0961-z (accessed 7 July 2018)
16. Ireland SJ, Monson NL, Davis LS. Seeking Balance: Potentiation and Inhibition of Multiple Sclerosis Autoimmune Responses by IL-6 and IL-10. Cytokine. 2015;73(2):236-44. Available from: https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.01.009 (accessed 9 July 2018)

17. Burger D, Molnarfi N, Weber MS, Brandt KJ, Benkhoucha M, Gruaz L, et al. Glatiramer acetate increases IL-1 receptor antagonist but decreases T cell-induced IL-1β in human monocytes and multiple sclerosis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2009;106(11):4355-9. Available from: https://doi.org/10.1073/pnas.0812183106 (accessed 20 April 2018)
18. Kallaur AP, Oliveira SR, Simão ANC, Alfieri DF, Flauzino T, Lopes J, et al. Cytokine Profile in Patients with Progressive Multiple Sclerosis and Its Association with Disease Progression and Disability. Mol. Neurobiol. 2017;54(4):2950-60. Available from: https://doi.org/10.1007/s12035-016-9846-x (accessed 2 April 2018)
19. Lin C, Edelson BT. New Insights into the Role of IL-1β in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Multiple Sclerosis. J. Immunol. 2017;198(12):4553-60. Available from: https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700263 (accessed 5 May 2018)
20. Farrokhi M, Etemadifar M, Jafary Alavi MS, Zarkesh-Esfahani SH, Behjati M, Rezaei A, et al. TNF-alpha Production by Peripheral Blood Monocytes in Multiple Sclerosis Patients and Healthy Controls. Immunol Invest. 2015;44:590-601. Available from: https://doi.org/10.3109/08820139.2015.1059851 (accessed 14 May 2016)
21. Fiedler SE, George JD, Love HN, Kim E, Spain R, Bourdette D, et al. Analysis of IL-6, IL-1β and TNF-α production in monocytes isolated from multiple sclerosis patients treated with disease modifying drugs. Journal of systems and integrative neuroscience. 2017;3(3). Available from: https://doi.org/10.15761/JSIN.1000166 (accessed 7 July 2018)
22. Repnik U, Knezevic M, Jeras M. Simple and cost-effective isolation of monocytes from buffy coats. J. Immunol. Methods. 2003;278(1-2):283-92. Available from: https://doi.org/10.1016/s0022-1759(03)00231-x (accessed 12 May 2018)
23. Belge KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, et al. The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. J. Immunol. 2002;168:3536-42. Available from: http://www.jimmunol.org/content/168/7/3536.long (accessed 4 April 2016)
24. Rossol M, Kraus S, Pierer M, Baerwald C, Wagner U. The CD14(bright)CD16+ monocyte subset is expanded in rheumatoid arthritis and promotes Th17 expansion. Arthritis Rheum. 2012;64:671-7. Available from: https://doi.org/10.1002/art.33418 (accessed 10 June 2016)
25. Frisdal E, Lesnik P, Olivier M, Robillard P, Chapman MJ, Huby T, et al. Interleukin-6 protects human macrophages from cellular cholesterol accumulation and attenuates the proinflammatory response. J. Biol. Chem. 2011;286:30926-36. Available from: https://doi.org/10.1074/jbc.M111.264325 (accessed 28 August 2017)
26. Janssens K, Slaets H, Hellings N. Immunomodulatory properties of the IL-6 cytokine family in multiple sclerosis. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2015;1351:52-60.
27. Fernando MR, Reyes JL, Iannuzzi J, Leung G, McKay DM. The proinflammatory cytokine, interleukin-6, enhances the polarization of alternatively activated macrophages. PLoS One. 2014;9:e94188. Available from: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094188 (accessed 12 December 2017)
28. Smedman C, Ernemar T, Gudmundsdotter L, Gille-Johnson P, Somell A, Nihlmark K, et al. FluoroSpot analysis of TLR-activated monocytes reveals several distinct cytokine secreting subpopulations. Scand. J. Immunol. 2012;75:249-58. Available from: https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02641.x (accessed 14 December 2017)
29. Skrzeczynska-Moncznik J, Bzowska M, Loseke S, Grage-Griebenow E, Zembala M, Pryjma J. Peripheral blood CD14high CD16+ monocytes are main producers of IL-10. Scand. J. Immunol. 2008;67:152-9. Available from: https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2007.02051.x (accessed 12 December 2017)

ЦИТОКІНОГЕНЕЗ ПРИ TLR-ОПОСЕРЕДКОВАНІЙ АКТИВАЦІЇ МОНОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ З РОЗСІЯНИМ СКЛЕРОЗОМ

Тупотілов О. В., Коляда Т. І.

Резюме. Досліджено відмінності TLR4- та TLR7/8-опосередкованої активації клітин моноцитарної фракції мононуклеарів периферичної крові пацієнтів з рецидивно-ремітуючим (РРС) та прогресуючим (ПРС) розсіяним склерозом на підставі аналізу продукції TNF-α, IL-1β, IL-1RA, IL-6, IL-10 та IL-12p70. Встановлено зниження співвідношення спонтанної продукції IL-1RA та IL-1β, підвищену резервну здатність до ЛПС- та ssRNA-індукованої продукції IL-6 на тлі зниженої резервної здатності до продукції TNF-α, IL-1β та IL-10 у порівнянні із показниками здорових осіб ($p<0,05$). При цьому резервна здатність моноцитів до ssRNA40/LyoVec-індукованої продукції IL-6 та IL-10 була нижче, а IL-1RA – вище порівняно із стимуляцією за допомогою ЛПС. Периферичні моноцити пацієнтів з рецидивно-ремітуючим РС характеризувалася також зниженою спонтанною продукцією IL-12p70 та підвищенням резервної здатності до ЛПС- та ssRNA40/LyoVec-індукованої продукції цього цитокіну. У пацієнтів з прогресуючим типом захворювання спостерігався високій рівень спонтанної продукції IL-12p70 та IL-1RA на тлі зниженої резервної здатності до стимульованої продукції IL-12p70. При TLR4-стимуляції в групі ПРС було визначено підвищення рівню IL-6, зниження резервної здатності до продукції IL-1RA та співвідношення індукованої продукції IL-1RA та IL-1β, а при TLR7/8-стимуляції – підвищення рівню IL-1β ($p<0,05$). Отримані результати вказують на відмінності у стані цитокіногенезу при стимуляції TLR4 та TLR7/8 та можуть свідчити про наявність функціональних та фенотипових альтерацій моноцитів периферичної крові в залежності від типу перебігу РС.

Ключові слова: розсіяний склероз, моноцити, цитокіни, Toll-подібні рецептори.

ЦИТОКИНОГЕНЕЗ ПРИ TLR-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

Тупотилов А. В., Коляда Т. И.

Резюме. Исследованы различия TLR4- и TLR7/8-опосредованной активации клеток моноцитарной фракции мононуклеаров периферической крови пациентов с рецидивирующим-ремитирующим (РРС) и прогрессирующим (ПРС) рассеянным склерозом на основании анализа продукции TNF-α, IL-1β, IL-1RA, IL-6, IL-10 и IL-12p70. Установлено снижение соотношения спонтанной продукции IL-1RA и IL-1β, повышенная резервная способность к ЛПС- и ssRNA-индуцированной продукции IL-6 на фоне сниженной резервной способности к продукции TNF-α, IL-1β и IL-10 по сравнению с показателями здоровых лиц ($p <0,05$). При этом резервная способность моноцитов к ssRNA40/LyoVec-индуцированной продукции IL-6 и IL-10 была ниже, а IL-1RA – выше по сравнению со стимуляцией с помощью ЛПС. Периферические моноциты пациентов с рецидивирующим-ремитирующим РС характеризовались также пониженной спонтанной продукцией IL-12p70 и повышенной резервной способностью к ЛПС- и ssRNA40/LyoVec-индуцированной продукции этого цитокина. У пациентов с прогрессирующим типом заболевания наблюдался высокий уровень спонтанной продукции IL-12p70 и IL-1RA на фоне пониженной резервной способности к стимулированной продукции IL-12p70. При TLR4-стимуляции в группе ПРС было выявлено повышение уровня IL-6, снижение резервной способности к продукции IL-1RA и соотношения индуцированной продукции IL-1RA и IL-1β, а при TLR7/8-стимуляции – повышение уровня IL-1β ($p<0,05$). Полученные результаты указывают на различия в состоянии цитокиногенеза при стимуляции TLR4 и TLR7/8 и могут свидетельствовать о наличии функциональных и фенотипических альтераций моноцитов периферической крови в зависимости от типа течения рассеянного склероза.

Ключевые слова: рассеянный склероз, моноциты, цитокины, Toll-подобные рецепторы.

CYTOKINOGENESIS BY TLR-INDUCED ACTIVATION OF PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

Tupotilov O. V., Kolyada T. I.

Abstract. Peripheral monocytes play an important role in all stages of the development of multiple sclerosis (MS), in particular they are involved in the formation of a pro-inflammatory context on both sides of the blood-brain barrier, and also have a wide range of immunoregulatory functions. Analysis of the ability of peripheral blood monocytes to activate when stimulated by TLR4 and TLR7/8, including the features of cytokinogenesis, is important for characterizing changes in the functional state of these cells, understanding their pathogenetic role in RRMS and progressive types (PMS) of disease. 48 patients with MS and 27 practically healthy persons (control group) were examined in this study. The in vitro experiment included the isolation of peripheral blood monocytes and their cultivation in three parallel series: intact cells; with the addition of the TLR4 stimulator; with the addition of the TLR7/8 stimulator. Peripheral blood monocytes were isolated on a double percoll gradient and resuspended with a complete RPMI medium supplemented with 1 μg/ml LPS E. Coli or ssRNA40/LyoVec (Invivogen, USA) until the final cell concentration in the wells of the plate reached 1×10^5 cell/ml and the final volume reached 0.2 ml, and then were incubated in 96-well plates for 24 hours at t=37 °C under 5% CO^2 atmosphere. The assay of TNF-α, IL-1β, IL-1RA, IL-6, IL-10, IL-12 in culture supernatants was performed by ELISA. For each experimental series, the IL-1RA/IL-1β ratio was calculated. For the LPS and ssRNA40/LyoVec series, the reserve capacity index (RCi) of monocytes was calculated as the ratio of the production of each of the cytokines in the series with the addition of the appropriate stimulator and the series with intact cells.

Results. It was found a decrease in the ratio of spontaneous production of IL-1RA and IL-1β and an increased RCi for LPS- and ssRNA-induced production of IL-6 against a background of decreased RCi for production of TNF-α, IL-1β and IL-10 in comparison with healthy persons ($p<0.05$). The RCi for ssRNA40/LyoVec-induced production of IL-6 and IL-10 was lower, and IL-1RA was higher compared to stimulation with LPS. Peripheral monocytes of patients with relapsing-remitting MS were also characterized by a decreased spontaneous production of IL-12p70 and an increased RCi for LPS- and ssRNA40/LyoVec-induced production of this cytokine. In patients with progressive type of disease, a high level of spontaneous production of IL-12p70 and IL-1RA was found against a background of reduced RCi for stimulated production of IL-12p70. By TLR4-stimulation it was found an increase in level of IL-6, a decrease in RCi for production of IL-1RA and a decrease in a ratio of induced production of IL-1RA and IL-1β, and by TLR7/8 stimulation – an increase in the level of IL-1β ($p <0.05$).

Conclusions. The obtained results demonstrate differences in the state of cytokinogenesis when stimulated by TLR4 and TLR7/8 and may indicate the presence of functional and phenotypic alterations of peripheral blood monocytes, depending on the type of course of the disease.

Key words: multiple sclerosis, monocytes, cytokines, Toll-like receptors.

Рецензент – проф. Литвиненко Н. В.

Стаття надійшла 31.07.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2018-3-1-145-187-190

УДК 616.381-072.1-089.168.1-06:617.55-007.43-06:[611.736-007.483:617.55-089.844]

[1]Фелештинський Я. П., [2]Дадаян В. А.

ВИБІР СПОСОБУ АЛОГЕРНІОПЛАСТИКИ ПРИ ТРОАКАРНИХ ГРИЖАХ ПОЄДНАНИХ З ДІАСТАЗОМ ПРЯМИХ М'ЯЗІВ ЖИВОТА

[1]Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (м. Київ)

[2]КЗ КОР «Київська обласна клінічна лікарня» (м. Київ)

varsik5@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри хірургії та проктології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, по темі «Розробка нових методів діагностики і хірургічного лікування захворювань передньої черевної стінки і органів черевної порожнини» (№ державної реєстрації 0110U00094).

Вступ. Широке впровадження лапароскопічних операцій в абдомінальній хірургії та мінімізація ускладнень з боку троакарних ран не виключає виникнення післяопераційних троакарних гриж. Частота троакарних гриж коливається в межах 0,75-7,7% [1,2,3]. Особливо висока частота 4,5-6,7% троакарних гриж спостерігається після лапароскопічної холецистектомії на ділянці встановлення параумбілікального троакару [2,4]. В більшості випадків це пов'язано з наявністю діастазу прямих м'язів живота та стонше-