

## Влияние антимедиаторной терапии на экспрессию матричной РНК в мононуклеарных клетках крови больных острым деструктивным панкреатитом

В.А. Горский<sup>1</sup>, М.А. Агапов<sup>1</sup>, М.В. Хорева<sup>2</sup>, И.В. Леоненко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Кафедра хирургии (зав. — проф. Б.К. Шуркалин)

<sup>2</sup> Кафедра иммунологии (зав. — проф. Л.В. Ковальчук)

<sup>3</sup> Кафедра общей патологии (зав. — проф. Ю.В. Балякин)

медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Известна ведущая роль воспалительных медиаторов в патогенезе острого панкреатита. Одним из механизмов запуска всего каскада воспаления является активация компонента системы врожденного иммунитета — Toll-подобных рецепторов. Изучено воздействие на уровень экспрессии матричной РНК TLR2- и TLR4- рецепторов в мононуклеарных клетках периферической крови больных острым панкреатитом с помощью антимедиаторной терапии. Отмечено увеличение уровня экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 у всех больных острым деструктивным панкреатитом. Экспрессия мРНК TLR2 при тяжелом течении панкреатита оказалась достоверно больше, чем у больных со средней тяжестью течения заболевания. Это может позволить определять тяжесть заболевания.

**Ключевые слова:** острый панкреатит, Toll-подобные рецепторы, антимедиаторная терапия.

## Influence of the Antimediator Therapy on the Expression of Messenger RNA in Blood Mononuclear Cells of Destructive Pancreatitis Patients

V.A. Gorski<sup>1</sup>, M.A. Agapov<sup>1</sup>, M.V. Khoreva<sup>2</sup>, I.V. Leonenko<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Chair of Surgery (Chief — Prof. B.K. Dhurkalin)

<sup>2</sup> Chair of Immunology (Chief — Prof. L.V. Kovalchuk)

<sup>3</sup> Chair of General Pathology (Chief — Prof. Yu.V. Balyakin)

N.I. Pirogov Russian National research medical university Ministry of Healthcare of Russia

Recent studies have established the leading role of inflammatory mediators in the pathogenesis of acute pancreatitis. One of the mechanisms for starting of the whole cascade of inflammation is the activation of the innate immune system component — Toll — like receptors. In this study the possibility of effects on the level of expression of messenger RNA TLR2 and TLR4 receptors in peripheral blood mononuclear cells of patients with acute pancreatitis by anti-mediator therapy was analyzed. These data can facilitate the disease severity definition.

**Key words:** acute pancreatitis, Toll-like receptors, anti-mediator therapy.

### ● Введение

Достоверно известно, что ведущую роль в патогенезе острого деструктивного панкреатита (ОДП) играют медиаторы воспаления — провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО $\alpha$  [1]. Эффект их влияния проявля-

ется в увеличении сосудистой проницаемости, миграции лейкоцитов, локальном повреждении тканей, генерализации воспалительной реакции, повреждении почек, легких и других органов с развитием полиорганной недостаточности в особо тяжелых случаях [2]. Причиной же выб-

В.А. Горский — проф. кафедры хирургии медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова. М.А. Агапов — доцент той же кафедры. М.В. Хорева — доцент кафедры иммунологии медико-биологического факультета того же университета. И.В. Леоненко — доцент кафедры общей патологии медико-биологического факультета того же университета.

Для корреспонденции: Агапов Михаил Андреевич — доцент кафедры хирургии медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И.Пирогова. Тел.: (8-916) 365-79-20. E-mail: getinfo911@mail.ru

роса цитокинов является активация мононуклеарных клеток посредством Toll-подобных рецепторов (TLR).

TLR относятся к семейству паттерн-распознающих рецепторов врожденного иммунитета. Они играют главную роль в идентификации микробных патогенов (экзогенные лиганды) клетками иммунной системы. Однако было доказано, что эндогенные лиганды (гепарансульфат, белки теплового шока, фибронектин и др.) также активируют рецепторы врожденного иммунитета и запускают асептическое воспаление, сопровождающееся высокой выработкой провоспалительных цитокинов [3]. В физиологических концентрациях эндогенные лиганды способствуют процессам восстановления и заживления тканей, тогда как высвобождение эндогенных лигандов в избыточных количествах может привести к повреждению тканей.

В частности, при остром панкреатите лиганды эндогенного происхождения, высвобождаемые при клеточной деструкции, могут активировать TLR. Известно, что большинство эндогенных лигандов взаимодействуют с TLR2- и TLR4-рецепторами [4].

После взаимодействия эндогенных лигандов с TLR происходит активация MID88-зависимого пути, что приводит к миграции в ядро ядерного фактора карра В (NF карра В) и запуску синтеза цитокинов. Кроме того, по данным ряда экспериментальных исследований в мононуклеарных клетках происходит увеличение экспрессии матричной РНК TLR (мРНК TLR). [5]. При этом в конечном итоге увеличение экспрессии мРНК TLR должно привести к повышенной экспрессии TLR на поверхности мембраны клетки и, как следствие, к еще большей выработке цитокинов (рис. 1).

Таким образом, возникает замкнутый круг, разобшение связей которого может улучшить результаты лечения ОДП.

Установлено, что у больных ОДП значительно повышены эффекторские функции TLR4- и TLR1/2-рецепторов на мононуклеарных клетках периферической крови, что может быть связано с их более высокой экспрессией клетками на начальной стадии заболевания. Использование лорноксикама – нестероидного противовоспалительного препарата группы оксикамов в комплексном лечении пациентов с ОДП приводило к снижению выработки провоспалительных цитокинов у этих больных [6, 7].

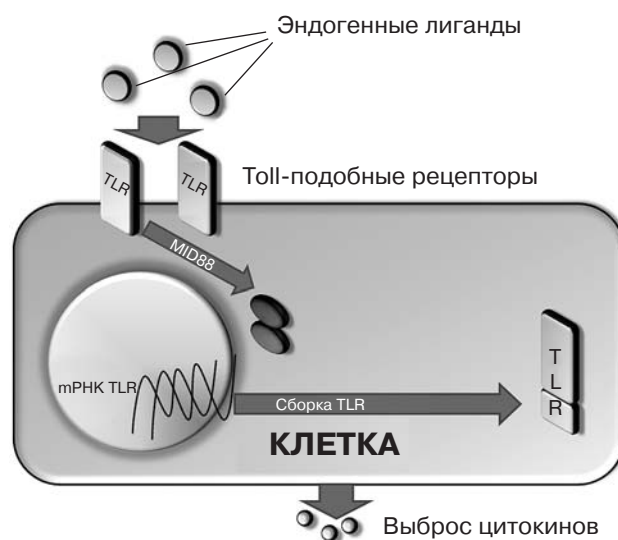


Рис. 1. Схема взаимодействия мононуклеарной клетки с эндогенными лигандами.

В настоящем исследовании проанализирована возможность воздействия на уровень экспрессии мРНК TLR2- и TLR4-рецепторов в мононуклеарных клетках периферической крови больных ОДП посредством антимедиаторной терапии.

#### ● Материал и методы

Антимедиаторную терапию проводили путем инфузии НПВС лорноксикам, единственного зарегистрированного в РФ препарата группы оксикамов с возможностью внутрисосудистого введения. Препарат вводили внутривенно капельно в течение первых пяти дней от момента поступления в дозировке 32, 32, 24, 16 и 16 мг/сут соответственно 2 раза в день.

Обследовано 19 больных ОДП алиментарной этиологии в возрасте от 20 до 60 лет. Все пациенты поделены на две группы. В 1-ю группу включены 10 пациентов, получающих только стандартную терапию. Базисная терапия пациентов 2-й группы (9 больных) дополнительно включала лорноксикам. Средний срок догоспитального периода у пациентов в обеих группах статистически не различался и был равен  $32 \pm 8$  ч. В соответствии с рекомендациями M.S. Petrov et al. [8] все пациенты каждой группы в зависимости от балльной оценки тяжести состояния по шкале APACHE II были разделены на 2 подгруппы: подгруппа тяжелой степени исходного состояния (ПТС) (15–18 баллов) и подгруппа средней степени тяжести (ПССТ) исходного состояния (10–14 баллов) (табл. 1).

Таблица 1. Распределение больных в зависимости от тяжести исходного состояния по шкале APACHE II

Группа больных	Подгруппа тяжелой степени тяжести исходного состояния (15–18 баллов)	Подгруппа средней тяжести (10–14 баллов)
1-я (n = 10)	4	6
2-я (n = 9)	5	4

Периферическую кровь для исследования забирали на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки после госпитализации. У пациентов 2-й группы на 1-е и 3-и сутки забор крови производился после двукратного введения лорноксикама. Для контроля исследовали кровь у 20 человек (группа здоровых доноров) в возрасте 20–45 лет: 11 мужчин и 9 женщин. Донорская кровь была предоставлена отделением переливания крови и гравитационной хирургии РДКБ. Оценивали экспрессию мРНК TLR2 и TLR4 в мононуклеарных клетках периферической крови больных ОДП 1-й и 2-й групп в динамике заболевания на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки по сравнению со здоровыми донорами.

Мононуклеарные клетки выделяли из гепаринизированной периферической крови (25 ед/мл крови) здоровых доноров и больных ОДП в одноступенчатом градиенте плотности фиколлурографина (Pharmacia,  $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ ). Рабочая концентрация клеток составляла  $1 \cdot 10^6$  в 1 мл среды RPMI 1640 (Sigma), содержащей 5% сыворотки эмбрионов коров (HyClone, Perbio), 2мМ L-глутамин (НПП ПанЭко), антибиотик – 100 мкг/мл гентамицина (“Дальхимфарм”, Хабаровск). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью 0,1% раствора трипанового синего. Выделенные клетки хранили в растворе для стабилизации РНК RNeasy RNA stabilization reagent (Qiagen) при  $-70^\circ \text{C}$ .

Для выделения РНК из мононуклеарных клеток периферической крови человека использовали коммерческие наборы RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, США). Каждый образец содержал  $1 \cdot 10^6$  клеток. Выделение проводилось в соответствии с инструкцией по применению наборов. Концентрацию выделенной из образцов РНК измеряли на спектрофотометре Picodrop (Thermo scientific, США). Концентрация РНК в образцах доноров и пациентов составила 16–80 нг/мкл. Рекомендуемая концентрация для проведения реакции обратной транскрипции от 1 пг/мкл до 1 мг/мкл.

Для проведения реакции обратной транскрипции использовали набор реагентов High capacity RNA to cDNA Master mix (Applied Biosystems, США). Равные количества РНК от здоровых доноров и пациентов с ОДП были использованы для проведения реакции обратной транскрипции. Реакцию обратной транскрипции проводили в объеме 20 мкл на приборе Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System. Полученную кДНК использовали для проведения ПЦР в режиме реального времени.

ПЦР проводили на приборе Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System. Смесь для реакции готовили по инструкции к реагентам Taqman Gene Expression Master Mix, использовали набор праймеров для определения генов

tlr2 (Hs01014511-m1, Applied Biosystems), tlr4 (Hs00152939-m1, Applied Biosystems). Реакционная смесь содержала 12,5 мкл Taqman Gene Expression Master Mix, 1,25 мкл праймеров, 2,5мкл кДНК в общем объеме 25 мкл. Уровни экспрессии TLR нормировали по гену  $\beta$ -актина (Human ACTB Endogenous Control (FAM / MGB Probe), Applied Biosystems, США). Режим для проведения реакции амплификации: 2 мин при  $t = 50^\circ \text{C}$ , 10 мин при  $t = 95^\circ \text{C}$ , 15 с при  $t = 95^\circ \text{C}$ , 1 мин при  $t = 60^\circ \text{C}$ . Число циклов – 40. Расчет осуществлялся в программе к прибору Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System, версия 2.0.5. Метод  $\Delta\Delta\text{Ct}$  – это относительный метод измерения, при применении которого получали результаты в виде относительных единиц (ОЕ), которые показывают уровень экспрессии гена-мишени в исследуемом образце по отношению к калибратору. В качестве шага 1 проводили нормализацию по эндогенному контролю ( $\text{Ct гена-мишени} - \text{Ct эндогенного контроля} = \Delta\text{Ct}$ ), шаг 2: нормализация по калибратору ( $\Delta\text{Ct образца} - \Delta\text{Ct калибратора} = \Delta\Delta\text{Ct}$ ),  $\text{ОЕ} = 2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ . ОЕ показывают уровень экспрессии гена-мишени в исследуемом образце по отношению к калибратору (за калибратор принимали пулированную кДНК доноров).

Обработку данных проводили в программном пакете StatSoft Statistica. Результаты выражали как среднее арифметическое для анализируемой группы показателей  $\pm$  стандартное отклонение. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием непараметрических критериев. Для сравнения групп по количественным признакам использовали U-критерий Манна–Уитни и критерий Вилкоксона. Различия показателей в группах считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## ● Результаты

Уровень экспрессии мРНК TLR2 в мононуклеарах больных ОДП обеих групп во всех временных точках заболевания достоверно выше, чем у здоровых доноров (табл. 2).

У больных ПТС 1-й группы пик экспрессии мРНК TLR2 приходился на 3-и сутки стационарного лечения. К 7-м, 14-м суткам значения мРНК TLR2 снижались, но все еще значительно превышали показатели в группе здоровых доноров. Кроме того, уровень экспрессии мРНК TLR2 у больных ПССТ 1-й группы был статистически значимо ниже, чем в ПТС 1-й группы на 1-е, 3-и и 14-е сутки заболевания. В ПТС и ПССТ 2-й группы пик экспрессии мРНК TLR2 наблюдали на 1-е сутки заболевания, в дальнейшем отмечали постепенное снижение изучаемого показателя. В ПТС 2-й группы также значения экспрессии мРНК TLR2 были статистически значимо выше, чем в ПССТ этой же группы.

Таблица 2. Экспрессия мРНК TLR2 у больных ОДП

Время забора крови, сут	Экспрессия мРНК TLR2 в 1-й группе		Экспрессия мРНК TLR2 во 2-й группе	
	ПТС	ПССТ	ПТС	ПССТ
1-е	43,75 ± 23,78*	14,54 ± 6,78	42,99 ± 25,67*	20,46 ± 16,28
3-и	47,54 ± 4,49*#	9,73 ± 5,76	28,97 ± 13,78**	11,01 ± 4,87
7-е	31,58 ± 21,86	21,9 ± 11,89	27,64 ± 12,34*	11,49 ± 8,35
14-е	25,08 ± 23,78*#	6,32 ± 2,87	11,69 ± 8,12**	5,72 ± 0,73

*Примечание.* Результаты представлены в ОЕ по отношению к контролю. \* – достоверные различия между больными с тяжелым течением и больными с течением средней тяжести в группе. # – достоверные различия между больными 1-й и 2-й групп.

Таблица 3. Экспрессия мРНК TLR4 у больных ОДП

Время забора крови, сут	Экспрессия мРНК TLR2 в 1-й группе		Экспрессия мРНК TLR2 во 2-й группе	
	ПТС	ПССТ	ПТС	ПССТ
1-е	11,83 ± 6,84	7,27 ± 4,1	10,81 ± 4,32	8,48 ± 4,59
3-и	10,22 ± 7,17*	2,54 ± 1,12	8,84 ± 3,84	4,54 ± 2,18
7-е	7,83 ± 3,27	15,1 ± 7,34#	7,51 ± 4,57	4,73 ± 1,98
14-е	6,24 ± 3,15	2,19 ± 0,98	3,76 ± 4,32	2,12 ± 1,32

*Примечание.* Результаты представлены в относительных единицах. \* – достоверные различия между больными с тяжелым течением и больными с течением средней тяжести в группе. # – достоверные различия между больными 1-й и 2-й групп.

У больных с тяжелым течением, получающих лорноксикам, уровень экспрессии мРНК TLR2 достоверно ниже начиная с 3-х суток по сравнению с пациентами ПТС 1-й группы. У больных со среднетяжелым течением как в 1-й, так и во 2-й группе на 3-и сутки выявили снижение экспрессии, в дальнейшем в группе больных, получающих лорноксикам, наблюдается постепенное снижение экспрессии мРНК TLR2, у больных 1-й группы, отмечается повышение экспрессии на 7-е сутки заболевания с последующим снижением к 14-м суткам.

При оценке экспрессии мРНК TLR4 получили, что экспрессия мРНК TLR4 в мононуклеарах больных ОДП 1-й и 2-й групп была достоверно выше, чем у здоровых доноров (табл. 3).

Анализируя экспрессию мРНК TLR4 в мононуклеарах больных ОДП, мы не выявили статистически значимых различий в динамике этих показателей между группами. Единственным отличием было то, что в ПССТ 2-й группы изучаемый показатель был ниже, чем в ПССТ 1-й группы на 7-е сутки стационарного лечения. К 14-м суткам в обеих подгруппах 2-й группы экспрессия мРНК TLR4 достоверно снижалась по сравнению с больными 1-й группы. Не выявили, достоверного различия в экспрессии мРНК TLR4 в мононуклеарных клетках периферической крови больных с тяжелым и среднетяжелым течением 1-й и 2-й групп.

Нами проанализирована динамика среднего балла по шкале АРАСНЕ II у двух групп пациентов средней степени исходного состояния в зависимости от использования в комплексе лечения НПВС лорноксикам (рис. 2). Отмечено,

что у больных обеих групп происходит снижение исследуемого показателя. Однако более выраженное и раннее его снижение зафиксировано у больных, в комплексное лечение которых был включен НПВС лорноксикам.

При анализе данных динамики среднего балла по шкале АРАСНЕ II у пациентов с тяжелой степенью тяжести исходного состояния выявили, что на первом этапе стационарного наблюдения степень тяжести исходного состояния примерно одинакова в обеих группах (рис. 3).

Как видно из представленной гистограммы, более выраженная тенденция к снижению изучаемого показателя наблюдалась во 2-й группе пациентов.

При анализе формы ОДП в группах обнаружили, что у всех пациентов 2-й группы были различные асептические формы течения заболевания. В то время как в 1-й группе два пациента

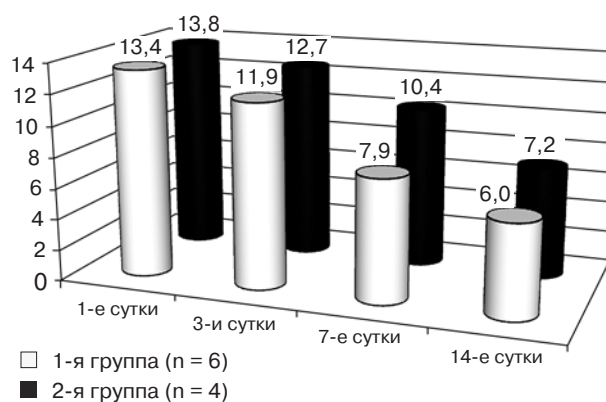


Рис. 2. Изменение среднего балла по шкале АРАСНЕ II у больных средней степени тяжести исходного состояния.

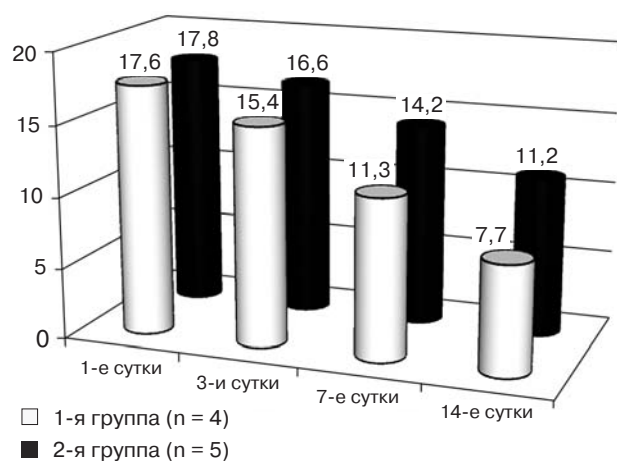


Рис. 3. Динамика среднего балла по шкале APACHE II у больных с исходно тяжелым состоянием.

ПТС имели инфицированные формы ОДП. Во 2-й группе летальных исходов не было. В 1-й группе зафиксировано 2 летальных исхода, оба в подгруппе с тяжелым течением ОДП.

### ● Обсуждение

Изучение функции системы TLR имеет важное значение в понимании патогенеза ОДП, так как повышенная экспрессия TLR особенно на ранней стадии заболевания может приводить к чрезмерной активации иммунной системы, гиперпродукции провоспалительных цитокинов, развитию системной воспалительной реакции и полиорганной недостаточности. С другой стороны, дефицит TLR усугубляет транслокацию грамотрицательных бактерий, что в свою очередь может приводить к развитию инфекционных осложнений у больных ОДП.

На сегодняшний день известно, что TLR играют важную роль не только в защите организма от микробной инфекции, распознавая эндогенные лиганды, высвобождаемые при повреждении тканей, деструкции клеток. TLR способствуют также регуляции воспаления, процессов восстановления и антимикробной защиты в зоне повреждения. Показано, что TLR вовлечены в патогенез атеросклероза, сепсиса, воспалительных заболеваний кишечника, аутоиммунных заболеваний [9].

Выявленные повышенные уровни экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 в мононуклеарных клетках больных ОДП свидетельствуют о вовлечении механизмов врожденного иммунитета и TLR в патогенез заболевания. При ОДП происходят массивная клеточная деструкция и выброс активаторов TLR эндогенного происхождения во внеклеточную среду, что, возможно, создает условия для активации сигнального пути TLR и повышения экспрессии генов TLR2 и TLR4. Высвобождаемые ферменты поджелудочной железы, такие как панкреатическая эластаза и др., способны

активировать TLR4. На экспериментальной модели острого панкреатита у мышей показано, что уровни мРНК и белка TLR4 были снижены через 4 ч после индукции заболевания и значительно повышены через 24 ч [10].

В проведенном исследовании у больных ОДП на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки заболевания наблюдали повышение экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 в мононуклеарных клетках периферической крови. При этом было выявлено, что у больных средней степени тяжести экспрессия мРНК TLR2 и TLR4 снижается на 3,7 сутки, а у больных с тяжелым течением заболевания и развитием осложнений уровень экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 продолжает повышаться, что может свидетельствовать о гиперактивации системы TLR в случае тяжелого течения заболевания.

В исследованиях L. Harter и соавт. [11] показано, что увеличение экспрессии TLR2 и TLR4 является плохим прогностическим фактором у пациентов с сепсисом, тогда как низкая экспрессия может защищать от чрезмерного воспаления и тканевого разрушения. В нашем исследовании высокая экспрессия генов TLR2 и TLR4 у больных ОДП, а также дальнейшее повышение экспрессии этих генов к 7-м суткам может служить прогностическим критерием неблагоприятного исхода заболевания и развития осложнений, что подтверждает данные авторов цитируемой статьи.

При анализе экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 в группе больных, получавших в дополнение к стандартной терапии лорноксикам (2-я группа), не обнаружили повышения экспрессии мРНК TLR2 на 3-и сутки заболевания, как в 1-й группе больных. Снижение экспрессии мРНК TLR2 у больных 2-й группы происходило на 7-е сутки заболевания. Что касается экспрессии мРНК TLR4 у больных 2-й группы, то достоверное снижение показателя отмечали на 7-е сутки по сравнению с больными 1-й группы.

### ● Заключение

Проведенное исследование показало увеличение уровня экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 у всех больных ОДП. Экспрессия мРНК TLR2 при тяжелом течении ОДП достоверно выше, чем у больных со средней тяжестью течения заболевания. Это может служить прогностическим критерием определения тяжести ОДП. Показатели экспрессии мРНК TLR4 в группах значимо не различались. Возможно, это связано с малой выборкой больных. Дальнейшие исследования помогут нам подтвердить или опровергнуть данный факт.

Целью нашей статьи не было освещение вопросов хирургической тактики при ОДП, которая в настоящее время относительно определена. В то же время возникает вопрос: как улучшить

результаты лечения больных в асептическую фазу течения ОДП, когда хирургические способы коррекции еще не могут быть применены? Обширные исследования в течение последних десятилетий, указывают на то, что способ лечения, который мог бы значительно улучшить исход ОДП, еще не разработан. Повсеместно используемая антибактериальная терапия по данным большого количества исследований не влияет на площадь некроза и не снижает уровень летальности [12]. Улучшение результатов лечения ОДП в настоящее время связывают с развитием представлений о молекулярных основах патогенеза заболевания и, как следствие, с появлением более эффективных направлений консервативной терапии.

Не менее важными задачами являются поиск новых методов мониторинга состояния иммунной системы у пациентов с ОДП и скорейшее внедрение их в клиническую практику (монокитарная экспрессия HLA, поверхностная экспрессия TLR, экспрессия мРНК TLR, определение уровня про- и противовоспалительных цитокинов). Поэтому будущие стратегии консервативного лечения будут сфокусированы на терапии, основанной на знаниях молекулярной патофизиологии патогенеза ОДП.

### ● Список литературы

1. Sabroe I., Parker L.C., Dower S.K., Whyte M.K. The role of TLR activation in inflammation // *J. Pathol.* 2008. V. 214. N 2. P. 126–135.
2. Bianchi M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger // *J. Leukoc. Biol.* 2007. V. 81. P. 1–5.
3. Li Y., Liantang W., Shangwu Ch. Endogenous toll-like receptor ligands and their biological significance // *J. Cell. Mol. Med.* 2010. V. 14. N 11. P. 2592–2603.
4. Erridge C. Endogenous ligands of TLR2 and TLR4: agonists or assistants? // *J. Leukoc. Biol.* 2010. V. 87. N 6. P. 989–999.
5. Hidehiro S., Takashi U., Yoshifumi T. et al. Role of Toll-like receptor 4 in the pathophysiology of severe acute pancreatitis in mice // *Surg.Today.* 2007. V. 37. P. 867–873.
6. Горский В.А., Ковальчук Л.В., Аганов М.А., Хорева М.В. Анти-медиаторная терапия в комплексном лечении острого деструктивного панкреатита // *Хирургия. Журн. им. Н.И. Пирогова.* 2010. №3. С. 54–61.
7. Хорева М.В., Ковальчук Л.В., Варивода А.С. и др. Влияние ингибитора циклооксигеназы на опосредованную через TLR2 и TLR4 выработку цитокинов мононуклеарными клетками человека в норме и при остром панкреатите // *Рос. иммун. журн.* 2009. Т. 3–4. №3 (12). С. 294–302.
8. Petrov M.S., Windsor J.A. Classification of the Severity of Acute Pancreatitis: How Many Categories Make Sense? // *Am. J. Gastroenterol.* 2010. V. 105. P. 74–76.
9. Montero Vega M.T., de Andrés Martín A. The significance of toll-like receptors in human diseases // *Allergol. Immunopathol.* 2009. V. 37. N 5. P. 252–263.
10. Li Y., Zou Z.G. Xia Q.J. et al. Toll-like receptor 4 detected in exocrine pancreas and the change of expression in cerulean-induced pancreatitis // *Pancreas.* 2005. V. 30. P. 375–381.
11. Harter L., Mica L., Stocker R. et al. Increased expression of toll-like receptor-2 and 4 on leukocytes from patients with sepsis // *Shock.* 2004. V. 22. N5. P. 403–409.
12. Jafri N.S., Mahid S.S., Idstein S.R. et al. Antibiotic prophylaxis is not protective in severe acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis // *Am. J. Surg.* 2009. V. 197. P. 806–813.