

УДК 616.36-089.87-06:616-091]-092.9
DOI: 10.24061/1727-0847.17.2.2018.13

Л.В. Татарчук, М.С. Гнатюк

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”

ОСОБЛИВОСТІ ЛОКАЛЬНИХ ІМУННИХ РЕАКЦІЙ У КЛУБОВІЙ КИШЦІ ПРИ ПОСТРЕЗЕКЦІЙНІЙ ПОРТАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Резюме. В експерименті на лабораторних білих щурах-самцях досліджені локальні імунні реакції у клубовій кишці в умовах пострезекційної портальної гіпертензії, яка була змодельована видаленням 58,1% паренхіми печінки. Встановлено, що пострезекційна портальна гіпертензія призводить до виражених змін локальних імунних реакцій у клубовій кишці, які характеризуються зниженням рівня секреторного IgA на 29,6%, числа плазмочитів з IgA на 1 мм² слизової оболонки на 32,5%, нерівномірним, диспропорційним зростанням кількості плазматичних клітин з IgM, IgG, IgE відповідно на 77,0%, у 4,1 та 5,1 раза. Клітинна щільність інфільтрату в слизовій оболонці досліджуваного органа збільшилася на 37,0%, а число мастоцитів – на 35,8%. Отримані результати засвідчують, що пострезекційна портальна гіпертензія призводить до ослаблення, напруження та нестабільності локального імунного гомеостазу слизової оболонки клубової кишки і виражених структурних змін у стінці досліджуваного органа.

Ключові слова: резекція печінки; клубова кишка; локальний імунітет.

Сьогодні у хірургічних клініках лікувальних закладів нерідко виконують резекцію печінки. Цю операцію здійснюють при доброякісних та злоякісних пухлинах, метастазах, травмах печінки, внутрішньопечінковому холангіолітизі, альвеолярному ехінококозі, трансплантації печінки [1,2,3]. Резекція великих об'ємів паренхіми печінки призводить до виникнення пострезекційної портальної гіпертензії [1,4,5]. Гемодинамічні зміни, що виникають при цьому у системі ворітної печінкової вени, супроводжуються венозним застоєм у органах, венозний дренаж яких здійснюється через вказану судину, гіпоксією та структурними змінами в них. В останні роки дослідники все частіше звертають увагу на зміни місцевого імунітету при різних ушкодженнях тонкої та товстої кишок, зосереджуючи увагу на роль локальних імунних реакцій в захисті слизових оболонок від патогенних чинників [6,7]. Варто зазначити, що зміни місцевого імунітету клубової кишки при резекціях різних об'ємів паренхіми печінки не вивчалися, а детальне та об'єктивне знання компенсаторно-адаптаційних процесів у стінці клубової кишки при резекціях різних об'ємів печінки, їх ролі у розвитку ентеральної недостатності до сьогоднішнього дня досліджені недостатньо і потребують свого вирішення.

Мета дослідження: вивчити особливості локальних імунних реакцій у клубовій кишці при пострезекційній портальній гіпертензії.

Матеріал і методи. Дослідження проведені на 45 лабораторних статевозрілих щурах-самцях, які були розподілені на 3 групи. 1-а група нараховувала 15 інтактних практично здорових тварин, 2-а – 15 щурів після резекції лівої бокової частки – 31,5% паренхіми печінки, 3-я – 15 тварин після резекції правої та лівої бокових часток печінки (58,1%) [4]. Евтаназія дослідних тварин здійснювалася кровопусканням в умовах тіопентал-натрієвого наркозу через 1 місяць від початку експерименту. Вирізані шматочки із клубової кишки фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну і після відповідного проведення через етилові спирти зростаючої концентрації заливали у парафінові блоки за загальноприйнятою методикою. Гістологічні зрізи товщиною 5-7мкм після депарафінізації фарбували гематоксилін-еозином, за ван-Гізеном, Маллорі, Вейгертом, толуйдиновим синім [8]. При виявленні плазматичних клітин-продуцентів Ig A, Ig M, Ig G, Ig E мікромні зрізи клубової кишки обробляли моноспецифічними антисироватками проти вказаних класів імуноглобулінів, кон'югованими із ізотіоціанатом флюоресцеїну, застосовуючи прямий метод Кунса з відповідним контролем [9], який вивчали при допомозі люмінесцентного мікроскопа “Люмам Р-8”. У люмінесцентному світлі підраховували плазматичні клітини, що давали специфічне світіння, на 1мм² слизової оболонки досліджуваного органа [10], а також щільність інфільт-

рату (ШЦ) на 1мм^2 тканини кишки, число мастоцитів [10]. Вміст секреторного Ig A (SIgA) визначали методом роздільної імунодифузії в агарі з специфічною сироваткою проти SIgA [7]. Варто вказати, що виконані експериментальні дослідження та евтаназію дослідних тварин проводили із дотриманням “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та відповідно до “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в дослідних та інших наукових цілях” [11]. Кількісні показники обробляли статистично. Обробка результатів виконана у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” в програмному пакеті STATISTIKA (“StatSoft Inc.”, США). Різницю між порівнювальними величинами визначали за критерієм Стьюдента та Манна-Уїтні [10,12].

Результати дослідження та їх обговорення.

Отримані дані в результаті проведеного дослідження показані в таблиці. Усестороннім аналізом показників, представлених у таблиці, встановлено, що через місяць після резекції 31,5% паренхіми печінки вони змінювалися незначно. Так, число плазматичних клітин з IgA у слизовій оболонці клубової кишки зменшилося з $(310,5 \pm 2,4)$ до $(296,6 \pm 2,1)$. Між наведеними показниками виявлена статистично достовірна ($p < 0,01$) різниця і остання цифрова величина виявилася меншою за попередню на 4,48%. Кількість плазмоцитів з IgM у даних умовах експерименту збільшилася на 3,8% ($p < 0,05$), з IgG – на 5,2%, а з IgE – на 8,1%. Концентрація секреторного імуноглобуліну А при цьому з статистично достовірною різницею ($p < 0,05$) зменшилася з $(0,690 \pm 0,006)$ г/л до $(0,658 \pm 0,009)$ г/л, тобто на 4,6%. У дослідних тварин через місяць після резекції 58,1% паренхіми печінки при розтині очеревинної порожнини спостерігалось розширення печінкової ворітної вени, повнокров'я і розширення брижових вен та види-

мого венозного русла тонкої та товстої кишок. Слизова оболонка клубової кишки повнокровна, набрякла, з поодинокими осередками точкових крововиливів. Описане вище засвідчило про наявність пострезекційної портальної гіпертензії [4,5].

Досліджувані локальні імунні реакції у слизовій оболонці клубової кишки при цьому виявилися більш вираженими порівняно з попередніми. Так, число плазматичних клітин з IgA у слизовій оболонці досліджуваного органа з вираженою статистично достовірною різницею ($p < 0,001$) зменшилося майже на 32,5%, а плазмоцити-продуценти IgM, IgG, IgE відповідно збільшилися на 77%, у 4,1 та 5,1 раза.

Рівень секреторного імуноглобуліну А з високим ступенем статистичної достовірності ($p < 0,001$) зменшився з $(0,690 \pm 0,006)$ до $(0,486 \pm 0,006)$ г/л, тобто на 29,6%. Клітинна щільність інфільтрату статистично достовірно ($p < 0,001$) зросла на 37,0%, а кількість мастоцитів на 35,8%. Серед останніх виражено зростала кількість дегранульованих клітин. Відомо, що мастоцити у фазі дегрануляції виділяють медіатори (гістамін, серотонін та ін.), забезпечуючи запальну фазу запально-дистрофічних змін у слизових оболонках травного тракту [13].

Важливою ланкою локального імунного гомеостазу слизових оболонок шлунково-кишкового тракту та дихальних шляхів є SIgA, який забезпечує “першу лінію захисту” вказаних структур від пошкоджуючих агентів. Виражене зниження рівня SIgA при пострезекцій портальній гіпертензії, тобто через місяць після резекції 58,1% паренхіми печінки засвідчує про значне пошкодження даного імунного захисту. Зростання при цьому плазмоцитів-продуцентів IgM, IgG, IgE, виражене порушення співвідношень між ними вказувало на напруженість та нестабільність локальних імунних реакцій у слизовій оболонці клубової кишки [7,9].

Необхідно також зазначити, що переважна більшість імунокомпетентних клітин локалізувалася

Таблиця

Імуноморфологічні показники клубової кишки експериментальних тварин ($M \pm m$)

Показник	Група тварин		
	1-а	2-а	3-я
Плазматичні клітини з IgA	$310,5 \pm 2,4$	$296,6 \pm 2,1^{**}$	$209,6 \pm 1,8^{***}$
Плазматичні клітини з IgM	$155,3 \pm 1,2$	$161,3 \pm 1,2^*$	$275,4 \pm 2,7^{***}$
Плазматичні клітини з IgG	$78,20 \pm 0,51$	$82,3 \pm 0,9^*$	$329,6 \pm 2,4^{***}$
Плазматичні клітини з IgE	$23,40 \pm 0,18$	$25,3 \pm 0,3^{**}$	$119,3 \pm 1,2^{***}$
SIgA, г/л	$0,690 \pm 0,006$	$0,658 \pm 0,009^*$	$0,486 \pm 0,006^{***}$
КІШ	$9560,0 \pm 82,2$	$9971,0 \pm 84,3^*$	$13097,0 \pm 140,7^{***}$
Мастоцити	$61,90 \pm 0,42$	$64,30 \pm 0,39^{**}$	$84,1 \pm 0,9^{***}$

Примітка. *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ порівняно з 1-ю групою спостережень.

у поверхневих ділянках слизової оболонки порожньої кишки. Серед них трапилися Т-лімфоцити, що відповідають за специфічну антигенну стимуляцію, беруть участь в реакціях підвищеної чутливості сповільненого типу, підвищують активність макрофагів шляхом взаємодії з попередниками антигістоутворюючих клітин, а також плазмодити, які виникають з В-лімфоцитів і беруть активну участь у імунних реакціях завдяки властивості синтезувати білки-імуноглобуліни [9]. У слизовій оболонці клубової кишки та її власній пластинці з'являлися імунні комплекси і дегранульовані тканинні базофіли. Імунні комплекси, а також IgM та IgG фіксувалися переважно у стромі та стінках гемокапілярів і кровоносних судин.

При гістологічному дослідженні мікропрепаратів клубової кишки переважно у 3-й групі спостережень визначалися виражені судинні розлади (повнокров'я венозних судин, явища перивазального набряку, стази у венозній частині мікрогемодинамічного русла, осередки діapedезних крововиливів), дистрофічні, некробіотичні зміни епітеліоцитів, ендотеліоцитів, стромальних структур, інфільтративні та склеротичні процеси. Домінували описані патогістологічні зміни у стінці досліджуваного органа через місяць після резекції 58,1% паренхіми печінки. Варто також зазначити, що виявлені патогістологічні ушкодження стінки клубової кишки при резекції печінки співпадали з досліджуваними імуногістологічними показниками. При значних відхиленнях імуногістохіміч-

них параметрів слизової оболонки порожньої кишки від контрольних величин у оболонках досліджуваного органа спостерігалися більш виражені та розповсюджені патогістологічні процеси. Існує думка, що напруженість, нестабільність та виражені зміни імунного захисту слизових оболонок травного тракту призводять до суттєвих порушень тканинного та клітинного структурного гомеостазів [9,10]. Отримані дані засвідчують, що локальні імунні процеси відіграють важливу роль у морфогенезі клубової кишки при тривалій пострезекційній портальній гіпертензії.

Висновок. Резекція 58,1% паренхіми печінки призводить до пострезекційної портальної гіпертензії та виражених порушень локального імунного гомеостазу у слизовій оболонці клубової кишки, які характеризуються зниженням рівнів SIgA і кількості плазмодитів-продуцентів IgA, значними порушеннями співвідношень між імуноцитами, що синтезують імуноглобуліни IgA, IgM, IgG, IgE, появою імунних комплексів у стромі та стінках судин. Ступінь змін місцевих імунних реакцій відповідає глибині та поширеності гемодинамічних розладів, дистрофічним, некробіотичним, інфільтративним та склеротичним процесам у досліджуваному органі.

Перспективи подальших досліджень. Всебічне вивчення місцевого імунного гомеостазу клубової кишки в умовах пострезекційної портальної гіпертензії дасть підставу суттєво розширити діагностику, корекцію та профілактику досліджуваної патології.

Список використаної літератури

1. Вишневский В.А. Сегментарне резекції, віддалені результати при злоякісних пухлях печені / В.А. Вишневский, М.Г. Ефанов, І.В. Казаков // *Укр. журнал хірургії.* – 2012. – № 1 (16). – С. 5-15.
2. Nakajima K. Efficacy of the predicted operation time strategy for syndronous colorectal liver metastasis feasibility study for staged resection in patients in long predicted operation time / K. Nakajima, S.Takanashi, N. Saito // *Gastrointest. Surg.* – 2013. – Vol. 17, № 4. – P. 688-695.
3. Reddy S.S. From Child-Pugh to Model for End-Stage Liver Disease: Deciding Who Needs a Liver Transplant / S.S. Reddy, J.M. Civan // *Med. Clin. Noth. Am.* – 2016. – Vol. 100, № 3. – P. 449-464.
4. Гнатюк М.С. Морфометрична оцінка особливостей ремоделювання структур дванадцятипалої кишки при резекції різних об'ємів печінки / М.С. Гнатюк, Л.В. Татарчук, О.Б.Ясіновський // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина».* – 2016. – вип. 1 (53). – С.92-95.
5. Sawada K. Multiple portal hypertensive polyps of the jejunum accompanied by anemia of the unknown origin / K. Sawada, T. Ohtake, N. Veno // *Gastrointest. Endosc.* – 2011. – 73. – P. 179-182.
6. Головатюк Л.М. Токсичний гепатит як фактор змін локальних імунних реакцій в слизовій оболонці товстої кишки / Л.М. Головатюк, Т.Е. Бондаренко, О.В. Критко // *Український журнал медицини, біології та спорту.* – 2017. – № 6 (8). – С.7-11.
7. Мізь А.В. Стан місцевого імунітету у статевозрілих щурів за умов гострої інтоксикації тетрахлоретаном / А.В. Мізь // *Здобутки клінічної та експериментальної медицини.* – 2012. – № 2(17). – С.194-196.
8. Сорочинников А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника / А.Г. Сорочинников, А.Е. Доросевич. – Москва: Медицина, 2007. – 448 с.

9. Кімакович В.І. Імунна система шлунково-кишкового тракту в нормі та патології / В.І. Кімакович, В.В. Чоп'як, О.В. Бродик. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1999. – 100 с.
10. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. – Москва: Медицина, 2002. – 240 с.
11. Резников О.Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах / О.Г. Резников // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
12. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excell / С.Н. Лапач, А.В. Губенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морйон, 2001. – 410 с.
13. Гасюк Н.В. Цитофункціональна характеристика представництва мастоцитів у яснах хворих на генералізований пародонтит / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко, І.О. Іваницький, С.Б. Герасименко // Світ медицини та біології. – 2013. – № 4(41). – С. 66-68.

References

1. Vishnevsky VA, Efanov MG, Kazakov IV. Segmentarnyye rezektsii, otdalennyye rezul'taty pri zlokachestvennykh opukholyakh pecheni [Long-term results after segmental liver resections for liver malignancy]. *Ukrainian Journal of Surgery*. 2012;1:5-15. (in Russian).
2. Nakajima K, Takahashi S, Saito N, Sugito M, Konishi M, Kinoshita T, et al. Efficacy of the predicted operation time (POT) strategy for synchronous colorectal liver metastasis (SCLM): feasibility study for staged resection in patients with a long POT. *J Gastrointest Surg*. 2013 Apr;17(4):688-95. doi: 10.1007/s11605-013-2163-z.
3. Reddy SS, Civan JM. From Child-Pugh to Model for End-Stage Liver Disease: Deciding Who Needs a Liver Transplant. *Med Clin North Am*. 2016 May;100(3):449-64. doi: 10.1016/j.mcna.2015.12.002.
4. Tatarchuk LV, Hnatjuk MS, Jasinovskiy OB. Morfometrychna otsinka osoblyvostey remodelyuvannya struktur dvanadtsyaty-paloyi kyshky pry rezektsiyi riznykh ob'yemiv pechinky [Morphometrical Evaluation Peculiarities Remodeling Structures Duodenum At Resections Different Volumes Of Liver]. *Scientific Bulletin Of Uzhhorod University. Series Medicine*. 2016;1:92-5. (in Ukrainian).
5. Sawada K, Ohtake T, Ueno N, Ishikawa C, Abe M, Miyoshi S, et al. Multiple portal hypertensive polyps of the jejunum accompanied by anemia of the un-known origin. *Gastrointest Endosc*. 2011 Jan;73(1):179-82. doi: 10.1016/j.gie.2010.07.011.
6. Holovatyuk L.M, Bondarenko TE, Kratko OV. Toxic hepatitis as a factor of changes in local immune reactions in the mucous membrane of the large intestine [Toxic Hepatitis as a Factor of Changes in Local Immune Reactions in the Colon Mucous Membrane]. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sport*. 2017;6:7-11. (in Ukrainian).
7. Miz' AV. Stan mistsevoho imunitetu u statevzrilykh shchuriv za umov hostroyi intoksykatsiyi tetrakhloretanom [Condition of local immunity in sexually mature rats in acute intoxication with tetrachloroethane]. *Zdobutky klinichnoyi ta eksperymental'noyi medytsyny*. 2012;2:194-6. (in Ukrainian).
8. Sorochinnikov AG, Dorosevich AYe. Gistologicheskaya i mikroskopicheskaya tekhnika [Histological and microscopic technique]. Moscow: Meditsina; 2007. 448 p. (in Russian).
9. Kimakovych VY, Chop'yak VV, Brodyk OV. Imunna systema shlunkovo-kyshkovoho traktu v normi ta patolohiyi [Immune system of the gastrointestinal tract in norm and pathology]. Ternopil: Ukrmedknyha; 1999. 100 p. (in Ukrainian).
10. Avtandilov GG. Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii [Basics of quantitative pathological anatomy]. Moscow: Meditsina; 2002. 240 p. (in Russian).
11. Reznikov OH. Zahal'ni etychni pryntsyipy eksperymentiv na tvarynakh [General ethical principles of experiments on animals]. *Endokrynolohiya*. 2003;8(1):142-5. (in Ukrainian).
12. Lapach SN, Gubenko AV, Babich PN. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh Excell [Statistical methods in biomedical research Excel]. Kiev: Morion; 2001. 410 p. (in Russian).
13. Gasyuk NV, Yerochenko GA, Ivanickiy IA, Gerasimenko SB. Цитофункціональна характеристика представництва мастоцитів у яснах хворих на генералізований пародонтит [Cytofunctional Description Of Mastotstiv In The Gums Of Patients With Generalized Periodontitis]. *World of Medicine and Biology*. 2013;4:66-8. (in Ukrainian).

ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНЫХ ИМУННЫХ РЕАКЦИЙ У ПОДВЗДОШНОЙ КИШКЕ ПРИ ПОСТРЕЗЕКЦИОННОЙ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Резюме. В эксперименте на лабораторных белых крысах-самцах исследованы локальные иммунные реакции в подвздошной кишке в условиях пострезекционной портальной гипертензии, которая была смоделирована удалением 58,1% паренхимы печени. Установлено, что пострезекционная портальная гипертензия приводит к выраженным изменениям локальных иммунных реакций в подвздошной кишке, которые характеризуются снижением уровня секреторного IgA на 29,6%, числа плазмочитов с IgA на 1 мм² слизистой оболочки на 32,5%, неравномерным, диспропорциональным ростом количества плазматических клеток с IgM. IgG, IgE соответственно на 77,0%, в 4,1 и 5,1 раза. Клеточная плотность инфильтрата в слизистой оболочке исследуемого органа увеличилась на 37,0%, а число тучных клеток на 35,8%. Полученные результаты свидетельствуют, что пострезекционная портальная гипертензия приводит к ослаблению, напряжению и нестабильности локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки подвздошной кишки и выраженным структурным изменениям в стенке исследуемого органа.

Ключевые слова: резекция печени; подвздошная кишка; локальный иммунитет.

PECULIARITIES LOCAL IMMUNE REACTIONS IN ILEUM WITH POSTRESECTION PORTAL HYPERTENSION

Abstract. In the experiment on laboratory albino male rats, local immune reactions were investigated in the ileum under conditions of post-resection portal hypertension, which was modeled by removing 58.1% of liver parenchyma. Post-resection portal hypertension was found to lead to pronounced changes in local immune reactions in the ileum, characterized by 29.6% reduction in secretory IgA, plasmocytes with IgA on 1 mm² on the mucosa by 32.5%, an uneven, disproportional increase in the number of plasmatic cells with IgM. IgG, IgE, by 77.0%, 4.1 and 5.1 times respectively. The cell density of the infiltrate in the mucosa of the investigated organ increased by 37.0%, and the number of mast cells by 35.8%. The results obtained indicate that post-resection portal hypertension leads to weakening, tension and instability of the local immune homeostasis of the ileum mucosa and marked structural changes in the wall of the investigated organ.

Key words: resection of liver, ileum, local immunity.

Відомості про авторів:

Татарчук Л.В., Гнатюк М.С. – співробітники ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”.

Information about author:

Tatarchuk L.V., Hnatiuk M.C. – employee of SHEE "I.Ya. Horbachevskiy Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of the Ukraine.

Надійшла 21.03.2018 р.

Рецензент – д.мед.н. Цигикало О.В. (Чернівці)