

**ВПЛИВ НУКЛЕЇНАТУ НА ПОКАЗНИКИ
КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ
З ХРОНІЧНИМ НЕКАЛЬКУЛЬОЗНИМ
ХОЛЕЦИСТИТОМ НА ТЛІ СИНДРОМУ
ЕКОЛОГІЧНОГО ОБУМОВЛЕНОГО
ІМУНОДЕФІЦИТУ**

В.І.Бикадоров, В.М.Фролов

Луганський державний медичний університет

Вступ

Протягом останніх десяти років в Україні значно зросла захворюваність на хронічну патологію гепатобіліарної системи, у тому числі на хронічний некалькульозний холецистит (ХНХ), особливо серед осіб молодого, найбільш працездатного віку [1,11,15,16]. Завдяки несприятливій екологічній ситуації майже в усіх районах України, а зокрема у такому насиченому промисловому регіоні, як Донбас, дуже часто ХНХ виникає на тлі синдрому екологічного обумовленого імунодефіциту (СЕОІ), що обтяжує перебіг холециститу та погіршує результати його лікування [3,4,12,22]. Виходячи з вищезгаданого, роль імунних порушень у патогенезі цієї сполученої патології займає найважливіше місце [2,20], тому було б доцільно вивчити можливість використання сучасного природного імуноактивного препарату нуклеїнату у лікуванні хворих на ХНХ сполучений з СЕОІ. Нуклеїнат є низькомолекулярною, високоочищеною дріжджовою рибонуклеїновою кислотою з молекулярною масою 7000 дальтон та з послідовністю 23-25 нуклеотидів. Препарат стимулює міграцію стовбурових клітин із кісткового мозку та збільшує утворення клітин імунологічної пам'яті. У людей з набутими імунодефіцитами різного походження нуклеїнат нормалізує рівні Т- і В-клітин при їх зниженому вмісті, їх функціональну активність, істотно стимулює продукцію Т-хелперів і Т-супресорів, усуває дисбаланс субпопуляцій лімфоцитів, нормалізує вміст антигенреактивних клітин і сироваткових імуноглобулінів класів G, A, M, зменшує кількість нульових лімфо-

цитів, індукує вироблення ендogenous інтерферону. Нуклеїнат збільшує фагоцитарну активність перитонеальних фагоцитів і лейкоцитів, активує полі- та мононуклеари, посилює хемотаксис [19]. Нуклеїнат володіє і протівірусним ефектом, тому що характеризується інтерфероногенною активністю [8, 10, 14].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами: Стаття виконувалася відповідно до основного плану науково-дослідних робіт (НДР) Луганського державного медичного університету і являє собою фрагмент теми НДР: "Клініко-патогенетичні особливості хронічного некалькульозного холециститу, сполученого з синдромом екологічного обумовленого імунодефіциту; лікування та медична реабілітація" (№ держреєстрації 0109U005266).

Метою роботи було вивчення впливу сучасного імуноактивного препарату нуклеїнату на стан клітинної ланки імунітету у хворих на ХНХ на тлі СЕОІ.

Матеріали та методи обстеження

Під наглядом знаходилося 83 хворих із встановленим діагнозом ХНХ віком від 21 до 58 років. Усі хворі були розподілені на дві групи - основну (42 хворих) та зіставлення (41 пацієнт). Діагноз ХНХ був виставлений за даними анамнезу, клінічного та лабораторного обстеження (в тому числі досліджень вмісту жовчі після проведення дуоденального зондування) і результатів ультразвукового дослідження (УЗД) стану органів черевної порожнини [17, 19, 21]. В обох групах проводилося загальноприйняте лікування, крім того, хворі з основної групи додатково отримували нуклеїнат усередину по 0,25 г (1 капсулі) 3-4 рази на день після вживання їжі протягом 2-3 тижнів поспіль [9]. Пацієнти групи зіставлення під час проведення лікування в якості гепатопротектору отримували силібор.

Крім клінічного та загальнолабораторного обстеження у хворих, які були під наглядом, проводили також імунологічне дослідження, яке включало вивчення загальної кількості Т- (CD3+) і В- (CD22+) лімфоцитів, субпопуляцій Т-хелперів/індукторів (CD4+) та Т-супресорів/кілерів (CD8+) у цитотоксичному тесті [17] з використанням моноклональних антитіл (МКАТ). Використовували комерційні МКАТ виробництва НВЦ "МедБіоСпектр" (РФ-Москва) класів CD3+, CD4+, CD8+, CD22+, а також обчислюва-

ли імунорегуляторний індекс як співвідношення CD4/CD8 за методом "імунологічного компаса" [18] та функціональну активність Т-лімфоцитів оцінювали за допомогою реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) при її постановці мікрометодом [5].

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження проводили на персональному комп'ютері Intel Core 2 Duo з допомогою багатфакторного дисперсійного аналізу з використанням пакетів ліцензійних програм Microsoft Windows^{XP} professional, Microsoft Office 2003, Microsoft Excel Stadia 6.1 / prof та Statistica [6, 7].

Отримані результати та їхнє обговорення

До початку лікування у обстежених хворих з загостренням ХНХ спостерігалась однотипова клінічна картина, яка характеризувалася загальною слабкістю, нездужанням, тяжкістю в правому підбер'ї, гіркотою в роті, обкладенням язика білим, жовтуватим або брунатним нальотом, наявністю позитивних симптомів Ортнера і Кера, в окремих випадках - субіктеричністю склер [13, 23, 25]. При помірному загостренні ХНХ у хворих наголошувалося також істотне зниження апетиту, нудота, нерідко закрепки або чергування обстипації і діарейного синдрому. При проведенні УЗД органів черевної порожнини в усіх обстежених хворих спостерігалися характерні зміни сонографічної картини: потовщення та двоконтурність стінки жовчного міхура, наявність в його порожнині концентрованої жовчі (детриту), нерідко також деформація порожнини міхура перетинками.

У результаті проведення імунологічних досліджень було встановлено, що у всіх хворих з ХНХ на тлі СЕОІ, до початку лікування мають місце чітко виражені порушення з боку показників клітинної ланки імунітету.

В обох досліджених групах - основної та зіставлення до початку лікування були однакові зсуви з боку вивчених імунологічних показників. Дійсно, відносне число CD3+ - лімфоцитів (загальна кількість Т-клітин) у хворих на РБ основної групи в цей період було знижено стосовно норми в середньому в 1,33 рази (P<0,01), в групі зіставлення - в 1,37 рази (P<0,01); абсолютна кількість CD3+лімфоцитів була зменшена у хворих основної групи в середньому в 1,57 рази та групи зіставлення в середньому в 1,6 рази стосовно норми (P<0,01) (таблиця 1).

Показники клітинної ланки імунітету у хворих з ХНХ на тлі СЕОІ до початку лікування (M±m)

Імунологічні показники	Норма	Групи обстежених		P
		основна (n=42)	зіставлення (n=41)	
CD3 ⁺ , %	69,5±2,1	52,1±1,5**	50,6±1,6**	>0,05
	Г/л	1,3±0,04	0,81±0,03***	0,81±0,03***
CD4 ⁺ , %	45,5±1,6	32,3±1,2**	33,1±1,3**	>0,05
	Г/л	0,85±0,03	0,51±0,03***	0,52±0,02***
CD8 ⁺ , %	22,4±1,3	21,2±1,2	21,7±1,3	>0,1
	Г/л	0,42±0,02	0,33±0,03*	0,34±0,02*
CD4/CD8	2,03±0,02	1,52±0,01***	1,53±0,02***	>0,1
РБТЛ з ФГА %	66,5±2,3	45,6±2,0***	45,9±2,1***	>0,1

Примітки: в таблицях 1 та 2 вірогідність різниці стосовно норми * - при P<0,05; ** - при P<0,01; *** - при P<0,001; стовпець P - вірогідність розбіжностей між показниками основної групи та групи зіставлення.

Кількість циркулюючих у периферичній крові CD4+клітин (Т-хелперів/індукторів) була зменшена до початку проведення лікування у хворих основної групи в середньому в 1,41 рази у відносному вимірі (P<0,01) відносно норми та в 1,67 рази в абсолютному значенні (P<0,001) стосовно норми. У хворих групи зіставлення кількість лімфоцитів з фенотипом CD4+ була зменшена стосовно норми до початку проведення лікування в середньому в 1,37 рази у відносному вимірі (P<0,01) та в 1,63 рази - в абсолютному (P<0,001). В той же час зменшення кількості CD8+клітин (Т-супресорів/кілерів) було суттєво меншим (дивись табл. 1). Так, до початку лікування відносна кількість CD8+лімфоцитів в обох обстежених групах знаходилася біля межі норми (P>0,05) та вірогідно від неї не відрізнялася. Абсолютна кількість CD8+лімфоцитів була вірогідно зменшена: в основній групі в середньому в 1,27 рази (P<0,05), у групі зіставлення - в 1,24 рази (P<0,05). Виходячи з вказаних змін субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, імунорегуляторний індекс CD4/CD8 в цей період обстеження був вірогідно знижений: в основній групі в середньому в 1,34 рази стосовно нормальних значень даного показника (P<0,001) та в групі зіставлення - в 1,33 рази (P<0,001). Показник РБТЛ з ФГА до початку лікування був знижений в основній групі в середньому

в 1,46 рази стосовно норми ($P < 0,001$) та в групі зіставлення - в 1,45 рази ($P < 0,001$), що свідчить про пригнічення функціональних спроможностей Т-клітинної ланки імунної відповіді.

При повторному проведенні імунологічних досліджень після завершення імунокорекції було встановлено, що в основній групі хворих, які отримували лікування з включенням сучасного імуноактивного препарату нуклеїнату відмічена, нормалізація вивчених показників клітинної ланки імунітету (табл. 2).

Таблиця 2

Показники клітинної ланки імунітету у хворих з ХНХ на тлі CEOI після завершення лікування ($M \pm m$)

Імунологічні показники	Норма	Групи обстежених		P
		основна (n=42)	зіставлення (n=41)	
CD3 ⁺ , %	69,5±2,1	68,4±1,6	58,3±1,5*	<0,05
	Г/л	1,3±0,04	1,28±0,04	1,02±0,02**
CD4 ⁺ , %	45,5±1,6	46,2±1,4	36,1±1,5*	<0,05
	Г/л	0,85±0,03	0,84±0,03	0,61±0,02*
CD8 ⁺ , %	22,4±1,3	22,0±1,1	22,4±1,2	>0,05
	Г/л	0,42±0,02	0,41±0,02	0,39±0,03
CD4/CD8	2,03±0,02	2,1±0,02	1,61±0,01**	<0,01
РБТЛ з ФГА %	66,5±2,3	66,4±2,2	53,8±1,9*	<0,05

Дійсно, у пацієнтів основної групи, які отримували нуклеїнат, відмічена ліквідація Т-лімфопенії, підвищення до нижньої межі норми лімфоцитів з фенотипом CD4⁺ (Т-хелперів/індукторів) та імунорегуляторного індексу CD4/CD8. В групі зіставлення також відмічалася позитивна динаміка з боку вивчених імунологічних показників, однак суттєво менш виражена. Тому після завершення лікування у хворих групи зіставлення кількість Т-лімфоцитів (CD3⁺клітин) залишалася вірогідно нижче як норми, так і відносно показника в основній групі. Дійсно, у хворих з групи зіставлення, на момент завершення лікування відносна кількість CD3⁺-клітин (тотальна популяція Т-лімфоцитів) залишилася в середньому в 1,19 рази нижче норми ($P < 0,05$), абсолютний вміст CD3⁺-лімфоцитів - в 1,27 рази нижче норми ($P < 0,01$); число CD4⁺-лімфоцитів (Т-хелперів/індукторів) - відповідно у 1,26 рази ($P < 0,05$) та 1,39 рази ($P < 0,05$) нижче норми; імунорегуляторний індекс CD4/CD8 - в 1,26 рази нижче норми ($P < 0,01$).

Показник РБТЛ з ФГА у хворих групи зіставлення був нижче норми в середньому в 1,24 рази ($P < 0,05$).

Отже, з наведених вище даних можна судити про позитивний вплив нуклеїнату на стан клітинної ланки імунітету, що проявляється у нормалізації індексів CD3⁺ CD4⁺, CD8⁺ та співвідношення CD4/CD8. У групі зіставлення відмічалася тенденція до нормалізації вивчених імунологічних показників, які характеризують стан клітинного імунітету, однак дані показники відрізнялися як від норми, так і від аналогічних в основній групі.

При включенні імунологічноактивного препарату нуклеїнату до комплексу лікування поступово ліквідувалася клінічна симптоматика, яка свідчить про загострення ХНХ, що характеризувалося зникненням таких клінічних проявів, як загальна слабкість, нездужання, тяжкість в правому підребер'ї, гіркота у роті, обкладення язика, негативними симптомами Ортнера і Кера, субіктеричність склер не відмічалася в жодному з випадків; спостерігалася покращення сонографічної картина органів черевної порожнини. Тому можна вважати доцільним та патогенетично обгрунтованим застосування сучасного імуноактивного препарату природнього походження нуклеїнату у клінічній практиці при лікуванні хворих з ХНХ на тлі CEOI.

Висновки

1. При імунологічному дослідженні було встановлено, що до початку лікування у хворих з ХНХ на тлі CEOI відмічалася наявність Т-лімфопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з більш вираженим зменшенням кількості циркулюючих у периферичній крові Т-хелперів/індукторів (Т-клітин з фенотипом CD4⁺) при помірному зниженні абсолютної кількості CD8⁺-клітин (Т-супресорів/кілерів), внаслідок чого імунорегуляторний індекс CD4/CD8 був вірогідно зниженим. Показник РБТЛ з ФГА достовірно знижувався, що свідчило про пригнічення функціональних спроможностей Т-клітинної ланки імунітету.

2. До початку лікування у обстежених хворих з загостренням ХНХ спостерігалась однотипова клінічна картина, яка характеризувалася загальною слабкістю, нездужанням, тяжкістю в правому підребер'ї, гіркотою в роті, обкладенням язика білим, жовтуватим або брунатним нальотом, наявністю позитивних симптомів Ортнера і Кера, в окремих випадках - суб-

іктеричністю склер. При помірному загостренні ХНХ у хворих наголошувалося також істотне зниження апетиту, нудота, нерідко закрепи або чергування обстипації і діарейного синдрому. При проведенні УЗД органів черевної порожнини в усіх обстежених хворих спостерігалися характерні зміни сонографічної картини: потовщення стінки жовчного міхура, наявність в його порожнині біліарного сладжу, нерідко деформація міхура перетинками.

3. Включення до комплексу лікування ХНХ на тлі СЕОІ нуклеїнату виявляє позитивний вплив на показники клітинної ланки імунітету, а саме сприяє ліквідації Т-лімфопенії, підвищенню кількості циркулюючих лімфоцитів з фенотипом CD4+ (Т-хелперів/індукторів) та нормалізації імунорегуляторного індексу CD4/CD8.

4. При застосуванні імуноактивного препарату нуклеїнату ліквідувалася клінічна симптоматика загострення ХНХ, що характеризувалося зникненням таких клінічних проявів, як загальна слабкість, нездужання, тяжкість в правому підребер'ї, гіркота у роті, обкладення язика, негативними симптомами Ортнера і Кера, субіктеричність склер не відмічалася в жодному з випадків. Спостерігалось покращення сонографічної картини.

5. Виходячи з отриманих даних, можна вважати корисним використання нуклеїнату для лікування ХНХ на тлі СЕОІ, оскільки застосування цього препарату має патогенетичне значення. Таким чином, призначення нуклеїнату при даній патології є доцільним та перспективним для використання в клінічній практиці.

Література

1. Бариляк І.Р. Екологія, імунітет і стан здоров'я населення України / І.Р. Бариляк, В.М. Фролов // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: зб. наук. праць. - Київ; Луганськ, 1998. - С. 179-190.
2. Взаємозв'язь в системі "окружаюча середина - стан слизових оболонок - імунний статус - захворюваність" / Кутепов Е.Н., Петрова І.В., Беляєва Н.Н. [і др.] // Гігієна і санітарія. - 1999. - № 5. - С. 6-9.
3. Димитриев Д.А. Сучасні методи вивчення впливу забруднення оточуючої середина на імунну систему / Д.А. Димитриев, Е.Г. Румянцева // Гігієна і санітарія. - 2002. - № 1. - С. 68-71.

4. Звиняцковский Я.И. Факторы риска и здоровье населения, проживающего в различных условиях окружающей среды / Я.И. Звиняцковский, О.В. Бердник // Доклады та здоров'я. - 1996. - № 1. - С. 8 - 11.

5. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных / Е.П. Киселева, А.С. Цвейбах, Е.И. Гольдман, Н.В. Пигарева // Иммунология. - 1985. - № 1. - С. 76-78.

6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морион, 2000. - 320 с.

7. Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морион, 2002. - 160 с.

8. Марусик У.І. Вплив нуклеїнату на показники активності нейтрофілів та еозинофілів крові школярів, хворих на бронхіальну астму / У.І. Марусик // Імунологія та алергологія. - 2008. - № 3. - С. 53-54.

9. Нуклеїнат. Інструкція до клінічного застосування. Затверджена Наказом МОЗ України від 18.08.2006 р., № 573.

10. Опыт применения препарата "Нуклеинат" в лечении часто болеющих воспалительными заболеваниями органов дыхания / Ж.Д. Семидоцкая, Т.В. Бездетко, И.А. Чернякова, Т.Ю. Химич // Імунологія та алергологія. - 2007. - № 2. - С. 68-69.

11. Особенности влияния загрязнения окружающей среды на здоровье населения промышленных городов Донецкого региона / И.С. Киреева, И.Г. Чудова, В.П. Ермоленко [і др.] // Доклады та здоров'я. - 1997. - № 3. - С. 33 - 35.

12. Порушення імунного статусу організму людини за дії хімічних чинників та методи їх визначення / І.М. Трахтенберг, Н.М. Дмитруха, О.С. Моложава, Ю.М. Миронюк // Інфекційні хвороби. - 2008. - № 4. - С. 82-89.

13. Стандартизовані протоколи діагностики та лікування хвороб органів травлення: методичні рекомендації / Н.В. Харченко, Г.А. Анохіна, Н.Д. Опанасюк [та інш.] - Київ, 2005. - 56 с.

14. Ткачук З.Ю. Вплив препаратів нуклеїнових кислот на агрегацію тромбоцитів in vitro / З.Ю. Ткачук // Доповіді Національної академії наук України. - 2008. - № 8. - С. 164-168.

15. Філіппов Ю.О. Основні показники гастроентерологічної захворюваності в Україні / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скурда, Л.М. Петречук // Гастроентерологія: міжвід. зб. - Дніпропетровськ, 2006. - Вип. 37. - С. 3 - 9.
16. Філіпов Ю.О. Хронічний холецистит: аналітичний огляд даних офіційної статистики МОЗ України за 2006-2008 рр. / Ю.О. Філіпов, І.Ю. Скурда // Сучасні медичні технології. - 2010. - № 2 (6). - С. 56-59.
17. Фролов В.М. Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета у больных / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин // Лаборат. дело. - 1989. - № 6. - С. 71-72.
18. Фролов В.М. Использование "иммунологического компаса" для диагностики иммунных нарушений / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин, С.Е. Казакова // Клиническая лабораторная диагностика. - 1994. - № 1. - С. 10 - 13.
19. Фролов В.М. Влияние нуклеината на состояние макрофагальной системы у больных с синдромом повышенной утомляемости / В.М. Фролов, И.В. Лоскутова, Н.А. Пересадин // Иммунология та алергологія. - 2009. - № 2-3. - С. 138-141.
20. Черешнев В.А. Экология, иммунитет, здоровье (по материалам лекции, прочитанной на конференции Соросовских учителей Свердловской области 3-4 ноября 1999 года) / В.А. Черешнев // Известия Уральского государственного университета. - 2000. - № 16. - С. 27 - 31.
21. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей : Пер. с англ. / Ш.Шерлок, Дж.Дули; под ред. З.Г. Оприсиной, Н.А. Мухина. - М. : Гэотар Медицина, 2002. - 864 с.
22. Штабський Б.М. Ксенобіотики, гомеостаз і хімічна безпека людини / Б.М. Штабський, М.Р. Гжегоцький. - Львів: Наутилус, 2007. - 307 с.
23. Elwood D.R. Cholecystitis / D.R. Elwood // Surg. Clin. North. - 2008. - V. 88, № 6. - P. 1241- 1252.
24. Rumack CM. Diagnostic Ultrasound, 2nd ed / Rumack CM, Wilson SR, Charboneau JW. - St.Louis: Mosby, - 1998. - P. 175-200.
25. Quality of life in patients with gallbladder dysfunction or chronic non-lithiatic biliary pain (chronic acalculous cholecystitis) / M. Planells, J. Bueno, A. Sanahuja [et al.] // Rev. Esp. Dig. - 2004. - V. 96, № 7. - P. 446 - 451.

Резюме

Бикадоров В.І., Фролов В.М. Влия нуклеинату на показатели клеточного иммунитета у больных с хроническим некалькулезным холециститом на тлі синдрому екологічного обумовленого імунодефіциту.

У хворих з хронічним некалькулезним холециститом на тлі синдрому екологічного обумовленого імунодефіциту з ХНХ на тлі СЕОІ до початку лікування виявляються зміни клітинної ланки імунітету, що характеризувалися Т-лімфопенією, зниженням кількості CD4+ лімфоцитів, імунорегуляторного індексу CD4/CD8 та функціональної активності Т-лімфоцитів за даними РБТЛ з ФГА. Включення імуноактивного препарату нуклеинату до комплексу лікування цих хворих сприяє нормалізації показників клітинної ланки імунітету, а в клінічному плані - прискоренню одужання хворих.

Ключові слова: хронічний некалькулезний холецистит, синдром екологічно обумовленого імуодефіциту, клітинна ланка імунітету, нуклеінат, імунокорекція.

Резюме

Быкадоров В.И., Фролов В.М. Влияние иммуноактивного препарата нуклеината на показатели клеточного звена иммунитета у больных с хроническим некалькулезным холециститом на фоне синдрома экологически обусловленного иммунодефицита.

У больных хроническим некалькулезным холециститом на фоне синдрома экологически обусловленного иммунодефицита до начала лечения выявлены сдвиги со стороны клеточного звена иммунитета, которые характеризовались Т-лимфопенией, снижением количества CD4+ лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 и функциональной активности Т-лимфоцитов по данным РБТЛ с ФГА. Включение иммуноактивного препарата нуклеината в комплекс лечения этих больных способствует нормализации показателей клеточного звена иммунитета, а в клиническом плане - ускорению выздоровления больных.

Ключевые слова: хронический некалькулезный холецистит, синдром экологически обусловленного иммунодефицита, клеточный иммунитет, нуклеинат, иммунокоррекция.

Summary

Bykadorov V.I., Frolov V.M. Influence of immunoactive preparation nucleinas on cellular immunity of the patients with chronic uncalculous cholecystitis with ecological immunodeficit syndrome.

At the patients with chronic uncalculous cholecystitis with ecological immunodeficit syndrome before treatment discover changes cellular immunity, which characterized by presence of T-lymphopenia, increasing of level CD4+ lymphocytis, immunoregular index CD4/CD8 and functional activity of T-lymphocytis by RBTL with PHA indexes. Including of immunoactive preparation nucleinas at the complex treatment of these patients, promotes normalisation cellular immunity indexes and in clinical plan - acceleration of wellness of the patients.

Key words: chronic uncalculous cholecystitis, ecological immunodeficit syndrome, cellular immunity, nucleinas, immunocorrection.

Рецензент: д.мед.н., проф. М.О. Пересадин