

УДК 616.341-007.272-089-06:612.017]-092.9  
DOI

©В. Б. Гоцинський, О. А. Домбровський

ДНВЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

## СТАН ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТОВСТОКИШКОВІЙ НЕПРОХІДНОСТІ

СТАН ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТОВСТОКИШКОВІЙ НЕПРОХІДНОСТІ – У статті приведено та проаналізовано дані дослідження показників гуморального імунітету: імуноглобулінів М, G, А та ЦІК при експериментальній товстокишковій непрохідності. Зміни рівня ІgM показують, що саме за рахунок ІgM забезпечується бактерицидна здатність сироватки крові протягом перших трьох діб перебігу непрохідності; ІgG забезпечують бактерицидну здатність та антитоксичну дію сироватки крові протягом усього перебігу непрохідності; зміни ІgА вказують на збереження ролі місцевої імунної відповіді слизових оболонок протягом усього перебігу непрохідності; синхронне зростання рівня ІgG та ЦІК на початкових етапах непрохідності може вказувати на формування ЦІК за умови надлишку антигенів та недостатності антитіл. Високий рівень ЦІК, що мають цитотоксичні властивості, може бути провідним моментом у виникненні імунної інтоксикації.

СОСТОЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТОЛСТОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ – В статье приведены и проанализированы данные исследования показателей гуморального иммунитета: иммуноглобулинов М, G, А и ЦИК при экспериментальной толстокишечной непроходимости. Изменения уровня IgM показывают, что именно за счет IgM обеспечивается бактерицидная способность сыворотки крови в первые трое суток течения непроходимости; IgG обеспечивают бактерицидную способность и антитоксическое действие сыворотки крови в течение всего периода непроходимости; изменения IgA указывают на сохранение роли местного иммунного ответа слизистых оболочек в течение всего периода непроходимости; синхронный рост уровня IgG и ЦИК на начальных этапах непроходимости может указывать на формирование ЦИК при избытке антигенов и недостаточности антител. Высокий уровень ЦИК, имеющих цитотоксические свойства, может быть ведущим моментом в возникновении иммунной интоксикации.

THE STATE OF HUMORAL IMMUNITY IN CASE OF EXPERIMENTAL COLON OBSTRUCTION – In this article we analyzed the humoral immunity indicators: IgM, IgG, IgA and CIC (Circulating Immune Complexes) in terms of colon experimental obstruction. The changes in IgM levels show that it provides the bactericidal activity of the serum during the first three days of obstruction; IgG provides bactericidal activity and anti-toxic effect of serum during whole period of obstruction; the changes of IgA level indicate on selling the role of the local mucosal immune response during period of obstruction; synchronous increase of IgG and CIC levels on the early stages of obstruction may indicate on CIC formation in terms of the excess of antigens and antibodies deficiency. High levels of CIC with cytotoxic properties may be a leading factor in the occurrence of immune intoxication.

**Ключові слова:** обтураційна товстокишкова непрохідність, гуморальний імунітет, імуноглобуліни М, G, А, циркулюючі імунні комплекси.

**Ключевые слова:** обтурационная толстокишечная непроходимость, гуморальный иммунитет, иммуноглобулины М, G, А, циркулирующие иммунные комплексы.

**Key words:** colon obstruction, humoral immunity, immunoglobulins M, G, A, circulating immune complexes.

**ВСТУП** Проблема лікування гострої кишкової непрохідності (ГКН) залишається актуальною у зв'язку із збільшенням кількості її випадків та високою післяопераційною летальністю [1]. При цьому слід брати до уваги, що на ГКН припадає до 10 % серед невідкладних за-

хворювань органів черевної порожнини. Найбільш часто зустрічається тонкокишкова непрохідність (60–70 %), а на долю товстокишкової непрохідності припадає 30–40 %. Причиною останньої, у більшості випадків, стає обтураційна непрохідність пухлинного генезу, яка супроводжується частковим або повним порушенням проходження кишкового вмісту по товстій кишці у наслідок об'ємного утвору [2, 4, 5, 9, 27]. Післяопераційна летальність при ГКН залишається високою і досягає 12–20 % [14, 30] й залежить не тільки від тактичних та технічних заходів, а переважно від виникнення складних патофізіологічних розладів, ініціатором яких стає власне ГКН. До цих розладів слід віднести синдром кишкової недостатності [13, 25], абдомінальний компармент-синдром [31], порушення мікроциркуляції у брижі та стінці кишечника [11, 15].

Також є дані про те, що реперфузія спричиняє більш тяжкі пошкодження тканин, ніж ішемія, що проявляються відтермінованими пошкодженнями органів через механізми активації циркулюючих нейтрофілних гранулоцитів, транслокацію, генерацію септичного каскаду та синдрому поліорганної недостатності [7, 26].

Залишається не встановлене місце таких імунологічних змін у каскаді патофізіологічних реакцій, як відповідь на транслокацію антигенів (бактеріальних та токсичних) у системний кровообіг [17, 24].

У зв'язку з цим важливим є дослідження змін гуморального імунітету при товстокишковій обтураційній непрохідності (ТКОН) в експериментальних тварин.

Метою дослідження було визначити реакцію імунної системи на експериментальну ТКОН.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Експериментальне дослідження проведено на 40 білих безпородних щурах-самках віком 18–19 місяців масою 205–255 г, яких утримували у віварії ДНВЗ “ТДМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”. Тварин поділили на 4 групи по 10 тварин: 3 експериментальних та контрольна. Утримання тварин та маніпуляції з ними виконували згідно з додатком 4 до Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин, затверджених МОЗ України № 755 від 12 серпня 1997 р [16] “Про заходи щодо подальшого вдосконалення організації форм роботи з використанням експериментальних тварин” та положення “Загальні етичні принципи експериментів на тваринах”, ухваленим Першим національним конгресом із біоетики [22, 23]. Тваринам виконували операційні втручання під загальним знеболюванням розчином кетаміну (“Каліпсол”) у дозі 70 мг/кг [18, 21]. Проводили серединну лапаротомію із дотриманням правил асептики та антисептики [20]. ТКОН моделювали шляхом накладання лігатури у низхідному відділі ободової кишки, на 1 см проксимальніше ректосигмоїдного кута, проведеної через вікно у брижі кишки, що стискала просвіт кишки на 2/3 [10]. При цьому ми дещо модифікували запропоновану методику: проводили фіксацію лігатури по протибрижовому краю двома серо-серозними швами поліпропіленом 4/0 з атравматичною голкою. Експериментальні групи відрізнялися за тривалістю перебігу ТКОН: перша – 1 доба; друга – 3 доби; третя – 7 діб. Після вищевказаного терміну в тварин проводили забір 1 мл венозної крові із бокової вени хвоста та виконували повторне операційне втручання. Виконували серединну релапаротомію; оцінювали макроскопічні зміни у черевній порожнині; проводили резекцію

товстої кишки у межах: середина поперечноободової кишки та на 1 см дистальніше від накладеної лігатури; декомпресію товстої кишки; відновлювали безперервність товстої кишки шляхом формування анастомозу кінець у кінець безперервним однорядним швом PDS II 4/0. Проводили забір ділянок кишки для мікроскопічного дослідження: проксимальна і дистальна межа резекції та ділянка кишки на 0,5 см проксимальніше від лігатури. Тварин контрольної групи виводили з експерименту під знеболюванням розчином кетаміну шляхом декапітації [28]. Проводили забір крові з порожнин серця та ділянок товстої кишки. У сироватці крові виконували визначення рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) шляхом їх преципітації розчином поліетиленгліколю-6000 та фотометрування на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвиль 450 нм [3, 6] та імуноглобулінів класів М, G, А турбодиметричним методом на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі "Hymaluzer 2000". Усі визначення проводили на базі Центральної науково-дослідної лабораторії. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Рівень IgM у контрольній групі становив  $(0,867 \pm 0,020)$  г/л; у першій дослідній групі –  $(1,548 \pm 0,048)$  г/л; у другій –  $(1,451 \pm 0,033)$  г/л; у третій –  $(0,831 \pm 0,036)$  г/л (рис. 1). Визначення рівня IgM у сироватці крові показало його достовірне зростання на першу та третю доби ТКОН, порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), із тенденцією до зниження з третьої доби ( $p > 0,05$ ). При цьому на 7-му добу ТКОН достовірної різниці рівня IgM, порівняно з контрольною групою, не виявлено ( $p > 0,05$ ).

Рівень IgG у контрольній групі становив  $(0,406 \pm 0,028)$  г/л; у першій дослідній групі –  $(0,673 \pm 0,007)$  г/л; у другій –  $(0,799 \pm 0,034)$  г/л; у третій –  $(0,981 \pm 0,039)$  г/л (рис. 1). Визначення рівня IgG у сироватці крові показало його достовірне зростання, починаючи з 1-го дня ТКОН ( $p < 0,05$ ).

Рівень IgA у контрольній групі становив  $(0,165 \pm 0,027)$  г/л; у першій дослідній групі –  $(0,230 \pm 0,022)$  г/л; у другій –  $(0,249 \pm 0,017)$  г/л; у третій –  $(0,340 \pm 0,024)$  г/л (рис. 1). Достовірно значиме зростання рівня IgA відмічається на третю та сьому доби ТКОН порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ). При цьому достовірно значимої різниці між рівнями IgA на третю та сьому доби не відмічено ( $p > 0,05$ ).

При дослідженні рівня ЦІК у сироватці крові в контрольній групі він становив  $(55,90 \pm 20,07)$  г/л; у першій дослідній групі –  $(98,40 \pm 12,42)$  г/л; у другій –  $(129,10 \pm 16,89)$  г/л; у третій –  $(135,90 \pm 24,06)$  г/л (рис. 2). При порівнянні концентрації ЦІК у сироватці крові контрольної та дослідних груп, відмічено його достовірно значиме зростання ( $p < 0,05$ ), починаючи з 1-ї доби ТКОН, дана тенденція зберігається до 7-ї доби перебігу ТКОН.

Вищевказані зміни рівнів імуноглобулінів дозволяють оцінити компоненти імунологічної реактивності. Так, зміни рівня IgM показують, що саме за рахунок IgM забезпечується бактерицидна здатність сироватки крові протягом перших трьох діб перебігу ТКОН. Проте до сьомої доби значимість IgM знижується. На нашу думку, в наслідок проникнення антигенів у системний кровотік та антигенної стимуляції дендритних сітчастих клітин лімфоїдних фолікулів і червоної пульпи селезінки відбувається посилення синтезу IgG, про що свідчать результати нашого дослідження. Це також приводить до посилення бактерицидної здатності та забезпечує антитоксичну дію сироватки крові протягом усього перебігу ТКОН. Згідно з теорією Томазі [8], при збільшенні кількості антигенів, що проникають через епітеліальний бар'єр, зберігається кореляція між

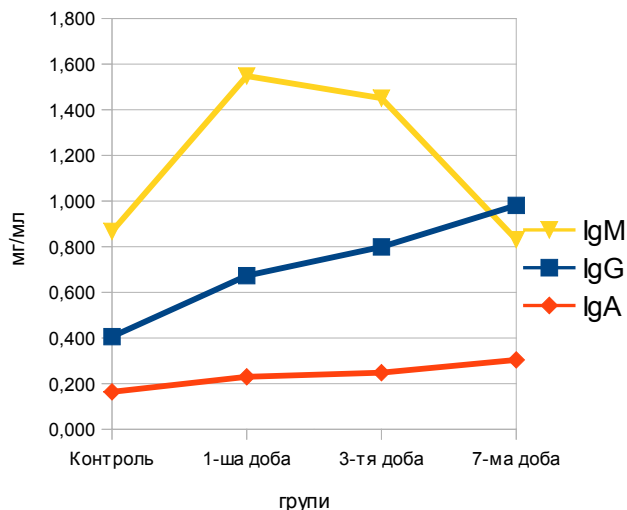


Рис. 1. Рівень імуноглобулінів у сироватці крові.

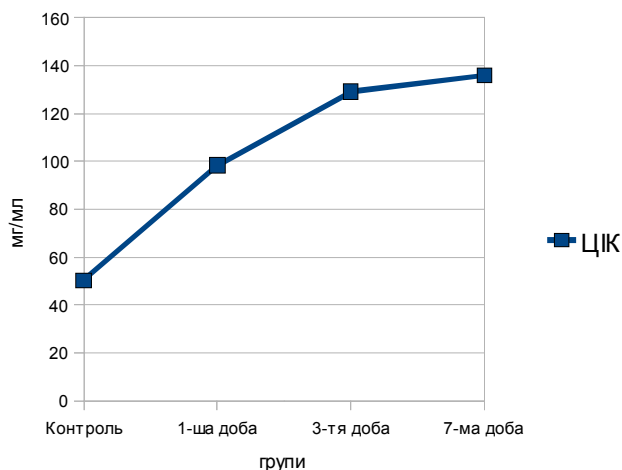


Рис. 2. Рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові.

рівнем сироваткових та секреторних IgA. Це вказує на збереження ролі місцевої імунної відповіді слизових оболонок протягом усього перебігу ТКОН. Зростання рівня ЦІК свідчить про постійне проникнення у системний кровотік антигенів, які з'єднуються з імуноглобулінами, утворюють нові великі та середні ЦІК. Проте синхронне зростання рівня IgG та ЦІК на початкових етапах ТКОН може вказувати на формування ЦІК за умови надлишку антигенів та недостатності антитіл.

Високий рівень ЦІК, що мають цитотоксичні властивості, може бути провідним моментом у виникненні імунної інтоксикації.

**ВИСНОВКИ 1.** Суттєві зміни в імунологічній реактивності із збільшенням кількості ЦІК при експериментальній товстокишковій непрохідності можуть відігравати значну роль у розвитку системних ускладнень та поліорганної недостатності.

**2.** Оцінка стану гуморального імунітету може бути важливим прогностичним фактором післяопераційного перебігу при товстокишковій непрохідності.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдухаким Муминович Хаджибаев Диагностика и лечение острой кишечной непроходимости / Абдухаким Муминович Хаджибаев Нигора Абдукамовна Ходжимухамедова, Фархад

- Абдухакимович Хаджибаев // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, № 3. – С. 377–381.
2. Алтиев Б. К. Проблемы диагностики и лечения острой спаечной тонкокишечной непроходимости / Б. К. Алтиев, Ш. К. Атаджанов, Ш. Б. Исабаев // Вестн. экстрен. мед. – 2010. – № 1. – С. 88–92.
3. Белозеров Е. С. Преципитационный метод исследования иммунных комплексов у больных вирусным гепатитом В / Е. С. Белозеров, Т. А. Макарова // Лабораторное дело. – 1982. – № 12. – С. 37–39.
4. Грубник В. В. Тактичні підходи до лікування гострої обтураційної непрохідності пухлинного ґенезу, яка ускладнена перитонітом / В. В. Грубник, В. В. Міщенко // Харківська хірургічна школа. – 2013. – № 2(59). – С. 46–48.
5. Важенин А. В. Результаты лечения больных с опухолевой толстокишечной непроходимостью / А. В. Важенин, Д. А. Маханьков, С. Ю. Сидельников // Хирургия. – 2007. – № 4. – С. 49–53.
6. Гриневич Ю. А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных / Ю. А. Гриневич, А. М. Алферов // Лабораторное дело. – 1981. – № 8. – С. 493–495.
7. Диагностика расстройств микроциркуляции и профилактики реперфузионных нарушений у пострадавших с сочетанной шокогенной травмой / С. Ф. Багненко, В. Г. Лапшин, Б. Н. Шах [и др.] // Скорая мед. помощь. – 2008. – № 3. – С. 23–27.
8. Сапроненков П. М. Иммунология желудочно-кишечного тракта / П. М. Сапроненков. – Ленинград : Наука, ЛО, 1987. – 159 с.
9. Классификация обтурационной толстокишечной непроходимости опухолевого генеза / Е. Е. Ачкасов, А. В. Пугаев, С. Ф. Алекперов [и др.] // Колопроктология. – 2009. – № 3. – С. 17–23.
10. Ковальчук Л. Я. Спосіб моделювання непрохідності кишки / Л. Я. Ковальчук, Т. Ю. Угляр // Патент на корисну модель № 60047 У МПК G009B23/28. Бюл. № 11. – 2 с.
11. Коррекция внутрибрюшной гипертензии и микроциркуляции у больных острой кишечной непроходимостью старческого возраста / М. Д. Дибиров, И. Е. Родионов, М. Р. Какубава [и др.] // Московский хирургический журнал. – 2012. – № 3 (25). – С. 9–14.
12. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К. : Морион, 2000. – 320 с.
13. Лечение энтеральной недостаточности при спаечной кишечной непроходимости / Ю. О. Сычинский, Е. А. Малышев, В. П. Федоров, А. Б. Джаджиев // Хирург. – 2007. – № 10. – С. 43–45.
14. Меньков А. В. Острая кишечная непроходимость неопухолевого генеза: современное состояние проблемы / А. В. Меньков, С. В. Гаврилов // Соврем. технологии в медицине. – 2013. – Т. 5, № 3. – С. 109–115.
15. Милюков В. Е. Гемомикроциркуляторные нарушения в патогенезе несостоятельности энтеро-энтероанастомоза / В. Е. Милюков, М. Р. Сапин, Н. А. Ефименко // Хирургия. – 2003. – № 8. – С. 35–38.
16. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных: приказ МОЗ України від 12.08.1997 № 755.
17. Непроходимость кишечника : руководство для врачей / под ред. А. П. Радзиховского – К. : Феникс, 2012. – 504 с.
18. Обездвиживание животных в эксперименте: методические рекомендации. – М. : МЗ СССР, 1985. – 24 с.
19. Однорядный непрерывный шов анастомозов в абдоминальной хирургии / под ред. Егиева В. Н. – М. : Медпрактика, 2002. – 100 с.
20. Политравма: руководство для врачей; в 2-х т. / под ред. В. В. Бойко, П. Н. Замятина. – 2-е изд., перераб. и доп. – Х.: Фактор, 2011. – Т. 1. – 640 с.
21. Приемы работы с экспериментальными животными: методические рекомендации. – М. : МЗ СССР, 1989. – 29 с.
22. Резніков О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах / О. Г. Резніков // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
23. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: методичні рекомендації / О. Г. Резніков, А. І. Соловйов, Л. В. Добреля, О. В. Стефанов. – Київ : 2006. – 28 с.
24. Влияние зондовой декомпресии кишечника на портальную и системную бактериемия у больных с перитонитом / В. С. Савельев, Б. В. Болдин, Б. Р. Гельфанд [и др.] // Хирургия. – 1993. – № 10. – С. 25–29.
25. Синдром кишечной недостаточности в urgentной абдоминальной хирургии: новые методические подходы к лечению / В. С. Савельев, В. А. Петухов, А. В. Каралкин [и др.] // Трудный пациент. – 2005. – № 4. – С. 30–37.
26. Тимербулатов Ш. В. Реперфузионный синдром в абдоминальной хирургии / Ш. В. Тимербулатов, М. В. Тимербулатов, А. У. Султанбаев // Мед. вестн. Башкортостана. – 2010. – Т. 5, № 4. – С. 145–151.
27. Рак ободочной кишки, осложнённый кишечной непроходимостью: диагностика, лечение, реабилитация / Топузов Э. Г., Плотников В. П., Абдуллаев М. А. – СПб. : Медицина, 1997. – 154 с.
28. Эвтаназия экспериментальных животных: методические рекомендации по выведению животных из эксперимента. – М. : МЗ СССР, 1985. – 37 с.
29. Морфофункциональная оценка тонкой кишки при механической непроходимости кишечника / Ю. М. Галеев, Ю. Б. Лимшанов, М. В. Попов [и др.] // РЖГГК. – 2008. – № 5. – С. 45–53.
30. Arenal J. J. Mortality associated with emergency abdominal surgery in the elderly / J. J. Arenal, M. Bengochea-Beeby // Can. J. Surg. – 2003. – Vol. 46. – P. 111–116.
31. Incidence and clinical effects of intra-abdominal hypertension in critically ill patients / M. G. Vidal, J. Ruiz Weisser, F. Gonzalez [et al.] / Crit. Care Med. – 2008. – Vol. 36. – P. 1823.

Отримано 16.11.15