

О.М. КЛІМОВА, І.В. ГУСАК, Л.А. ДРОЗДОВА, Ю.В. КАЛАШНИКОВА  
Інститут загальної та невідкладної хірургії АМН України, Харків

## ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОРЕАКТИВНОСТІ У ХВОРИХ З ОСЕРЕДКОВИМИ УРАЖЕННЯМИ ПЕЧІНКИ

У хворих з осередковими захворюваннями печінки (гемангіоми, кісти, абсцеси, гепатоцелюлярні карциноми) проведено комплексне дослідження змін загальної гуморальної імунорезистентності й клітинного імунітету. У всіх обстежених хворих наявні характерні зміни всіх ланок імунної системи, включаючи гуморальну й Т-клітинну ланку. Пригнічений фагоцитоз нейтрофілів спостерігається у хворих з гемангіомами та абсцесами печінки, а активація первинного захисту спостерігається у хворих на кісти печінки та гепатоцелюлярний рак та зниження Т-клітинного імунітету у хворих з новоутвореннями (гемангіомами та гепатоцелюлярним раком). У хворих з кістами й абсцесами печінки виявили підвищення концентрації імуноглобуліну А (IgA), підвищення концентрації імуноглобуліну G (IgG) – у хворих з кістами печінки. Зміни субпопуляцій CD3<sup>+</sup> (зниження у хворих з гемангіомами печінки та гепатоцелюлярним раком) і CD8<sup>+</sup> (підвищення у хворих з абсцесами печінки), як показників рівня інтоксикації, можуть бути використані в якості прогностичного тесту важкості стану й результату захворювання та вибору лікувальної тактики. Характер змін гуморального імунітету з високими показниками IgA, багаторазовим збільшенням концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), достовірно підвищеною концентрацією пептидів середньої молекулярної маси обумовлює доцільність проведення детоксикаційних заходів (ентеросорбції та гемофільтрації) на етапах передопераційної підготовки хворих з абсцесами печінки.

**Ключові слова:** осередкові захворювання печінки (печінка, гемангіома, кіста, абсцес, гепатоцелюлярна карцинома), Т-клітинний імунітет, гуморальний імунітет.

**Вступ.** Печінка є основним органом, що виконує множинні функції (секреторна, екскреторна, детоксикаційна і т.ін.), і в процесі життєдіяльності організму перетерплює масивне екзогенне й ендогенне навантаження, що часто перевищує її фізіологічні можливості. Внаслідок цього можуть розвиватися різні оборотні та необоротні метаболічні зміни з порушенням функції детоксикації й реалізації програми обезпечення організму від продуктів метаболізму інфекційних патогенів.

Фізіологічний резерв печінки багато в чому обумовлюється функціональними, проліферативними і регенеративними властивостями гепатоцитів, разом із цим загальну резистентність органу багато в чому визначають сироваткові фактори резистентності та імунокомпетентні клітини, які локалізовані безпосередньо в органі та за його межами [4 – 6].

Паренхіма печінки може бути ураженою осередковими утвореннями різного походження.

У структурі основних осередкових захворювань печінки особливий інтерес становлять патологічні стани, що стосуються усього різноманіття функцій печінки. До них слід віднести наступні патологічні стани: гемангіоми печінки; кісти печінки; абсцеси печінки; гепатоцелюлярні карциноми.

Спільною властивістю даних захворювань є поступове зростання об'ємних утворень, які істотно обмежують функціональні можливості печінки, що супроводжується наростаючими проявами метаболічних дисфункцій [8].

Об'ємні новоутворення печінки (гемангіома печінки; кіста печінки; абсцес печінки; гепатоце-

люлярна карцинома) мають тією чи іншою мірою виражену антигенну активність. Характер порушення функцій печінки обумовлюється імунорезистентністю організму в цілому, що у свою чергу впливає на розвиток як самого захворювання, так і вторинного імунопатологічного стану в самому органі. Однак у науковій літературі немає відомостей про вивчення в порівняльному аспекті порушень імунітету й факторів неспецифічної резистентності у хворих з осередковими захворюваннями печінки, що має особливе значення для прогнозування ускладнень у післяопераційному періоді у хворих із патологією печінки [5].

Після операцій із приводу осередкових захворювань печінки число гнійно-септичних ускладнень складає 27 – 58 % [1, 2, 3, 5, 7] без суттєвої тенденції до зниження. З'ясування спрямованості змін функцій печінки необхідно як у структурі організації передопераційної підготовки пацієнтів, так і для визначення лікувальної тактики після операції з урахуванням прогнозування можливих післяопераційних ускладнень і результату захворювання [8, 9].

У нормі функція окремих ланок імунітету піддається функціональним динамічним змінам, але на тлі хронізації або прогресування метаболічного дисбалансу розвиваються патофізіологічні стійкі незворотні порушення імунорезистентності у вигляді стійких імунодефіцитів або гуморальної сенсибілізації з автоімунним компонентом. Комплексне лікування такого роду хворих, що включає хірургічне втручання й медикаментозну терапію, повинне враховувати необхідність добору індивідуальної спрямованої імунокорекції.

**Мета дослідження.** Виходячи з вищесказаного, метою даної роботи було комплексне дослідження змін загальної гуморальної імунорезистентності й клітинного імунітету в групах хворих з різними осередковими захворюваннями печінки.

**Матеріали та методи.** Було обстежено 52 пацієнти з осередковими захворюваннями печінки, що перебували на стаціонарному лікуванні в клініці Інституту загальної та невідкладної хірургії АМН України.

Хворі розподілені на чотири групи:

група 1 – 9 хворих з гемангіомами печінки;

група 2 – 11 хворих з кістами печінки;

група 3 – 16 хворих з абсцесами печінки;

група 4 – 16 хворих з гепатоцелюлярними карциномами.

Використані методи: світлової і флуоресцентної мікроскопії для дослідження фагоцитозу й Т – клітинного імунітету. Гуморальні фактори досліджували за допомогою імуноферментного аналізу, спектрофотометрії й турбідиметрії.

**Метод визначення фагоцитуючої активності гранулоцитарних нейтрофілів.**

Фагоцитарне число:  $ФЧ = N_{др.} / N_{фаг.}$ ,

де  $N_{др.}$  – кількість поглинутих дріжджових клітин;

$N_{фаг.}$  – кількість клітин, що вступили у фагоцитоз.

**Метод визначення експресії кластерів диференціювання Т-лімфоцитів  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ .**

Принцип методу полягає в специфічному зв'язуванні моноклональних антитіл (МКАТ), мічених FITC, з відповідними поверхневими антигенами імунокомпетентних клітин. За допомогою люмінесцентної мікроскопії проводиться підрахунок клітин, які зв'язують МКАТ, мічені FITC.

**Вміст ЦІК** (циркулюючих імунних комплексів) у сироватці крові оцінювали спектрофотометричним методом після інкубації зразків у боратному буфері та поліетиленгліколі при кімнатній температурі при довжині хвилі  $\lambda = 450$  нм проти боратного буфера.

Основу методу визначення константи ЦІК складає селективна преципітація ЦІК у градієнті щільності поліетиленгліколя. Спектрофотометрично визначали оптичну щільність при довжині хвилі  $\lambda = 280$  нм проти гідроксиду натрію. Константу ЦІК розраховували за формулою:

$$ЦІК = D_2 / D_1, \text{ де}$$

$D_1$  – оптична щільність у пробі 1;

$D_2$  – оптична щільність у пробі 2.

**Визначення вмісту автоімунних антитіл** здійснювали за тестом на лімфоцитотоксичність (класичний метод Тerasaki). Про рівень автоімунних антитіл судили по процентному співвідношенню живих і мертвих клітин.

**Метод визначення концентрації пептидів середньої молекулярної маси (ПСММ).** Сироватку (плазму) обробляли розчином ТХУ, надосадову рідину звільняли від грубодисперсних білків, детекцію здійснювали спектрофотометрично при  $\lambda = 254$  нм (дейтерієва лампа) щодо дистильованої води.

**Визначення вмісту сироваткових імуноглобулінів класів А, М та G ( $IgA$ ,  $IgM$ ,  $IgG$ )** здійснювали на автоматичному імуноферментному аналізаторі STATFAX 3200. Для визначення концентрації використовували стандартний набір моноспецифічних антисироваток до імуноглобулінів кожного класу й контрольну сироватку з відомим вмістом імуноглобулінів (г/л). Оптичну щільність вимірювали в біхроматичному режимі при  $\lambda_1 = 405$  нм і  $\lambda_2 = 570$  нм проти холостої проби (без сироватки крові).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Виявлені відмінності неспецифічної резистентності та показників гуморального і клітинного імунітету у хворих з осередковими захворюваннями печінки різного походження. Отримані дані в результатах дослідження неспецифічної первинної резистентності у хворих з осередковими захворюваннями печінки: виявлене достовірне пригнічення фагоцитарного індексу в групі 1 (хворі з гемангіомами печінки) і в групі 3 (хворі з абсцесами печінки) (табл. 1).

Таблиця 1  
Показники неспецифічної резистентності у хворих с осередковими захворюваннями печінки

Група	Фагоцитарний індекс, %	Фагоцитарне число	Індекс завершеності фагоцитозу
Контрольна група	$73,1 \pm 5,0$	$3,6 \pm 0,1$	$1,10 \pm 0,02$
Гемангіома печінки	$62 \pm 2,0$	$2,23 \pm 0,10^*$	$0,91 \pm 0,02$
Кіста печінки	$89,5 \pm 2,2$	$5,0 \pm 0,09$	$0,9 \pm 0,01$
Абсцес печінки	$59,3 \pm 1,8$	$2,02 \pm 0,06^*$	$0,92 \pm 0,08$
Гепатоцелюлярний рак	$82,7 \pm 2,0$	$3,8 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,05$

\* – відмінності в порівнянні з контрольною групою достовірні ( $p < 0,05$ ).

У хворих 1 і 3 груп також виявлені зниження адгезивних властивостей і ендцитозу нейтрофілів, про що судили по пригніченню фагоцитарного

числа й індексу завершеності фагоцитозу. У хворих другої групи з кістами печінки були підвищені середні показники величини фагоцитарного числа.

У хворих на гепатоцелюлярний рак (група 4) не виявлено достовірних змін середніх значень показників фагоцитозу нейтрофілів у порівнянні з референтними значеннями (таблиця 1). Таким чином, пригнічений фагоцитоз нейтрофілів спостерігається у хворих з гемангіомами та абсцесами печінки, а активація первинного захисту спостерігається у хворих на кісти печінки та гепатоцелюлярний рак.

У таблиці 2 наведені дані, що характеризують зміну показників гуморального імунітету в чотирьох досліджуваних групах. У хворих 2 групи з кістами печінки й у хворих 3 групи з абсцесами

печінки виявили багаторазове збільшення концентрації ЦІК у порівнянні з референтними значеннями, і з величиною даного показника в 1-й і 4-й групах.

У хворих з кістами й абсцесами печінки виявили підвищення концентрації імуноглобуліну А (IgA) від 4,29 г/л до 4,70 г/л при (1,5 ± 0,4) г/л у контрольній групі. У хворих з кістами печінки також виявлене максимальне підвищення концентрації IgG до (33,0 ± 1,7)г/л при (13,9 ± 0,4)г/л у контролі за рахунок хронічного плинку й наявності антигенної сенсibiliзації інфекційного й паразитарного генезу (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст показників гуморального імунітету у хворих с осередковими захворюваннями печінки

Група	Лімфоцитотоксичність %	ЦІК, од. Е	ЦІК, константа	Ig A, г/л	Ig M, г/л	Ig G, г/л
Контрольна група	28,6 ± 5,3	98,3 ± 21,1	1,3 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,1 ± 0,2	13,9 ± 0,4
Гемангіома печінки	42,0 ± 3,0	144,0 ± 12,2	1,0 ± 0,1	2,7 ± 0,5	1,6 ± 0,2	9,8 ± 0,7
Кіста печінки	48,5 ± 0,7*	227,5 ± 38,8*	1,1 ± 0,1	4,7 ± 1,5*	3,6 ± 1,6*	33,0 ± 2,7*
Абсцес печінки	43,7 ± 0,7	425,7 ± 87,8*	1,1 ± 0,05	4,3 ± 0,7*	2,8 ± 0,6*	14,1 ± 3,3
Гепатоцелюлярний рак	45,0 ± 3,4*	135,4 ± 18,7	1,0 ± 0,05	2,2 ± 0,4	1,2 ± 0,2	9,7 ± 0,8

\* – відмінності в порівнянні з контрольною групою достовірні (p<0,05).

Імуноглобулінові антитіла IgA і IgG виступають у ролі аутоімунних антитіл і є предикторами аутоімунних захворювань. Підвищення концентрації IgA характеризує напруженість локальних факторів імунітету у хворих на тлі хронічного запального процесу (2 і 3 групи).

Результати дослідження експресії кластерів диференціювання CD на Т-лімфоцитах, що характеризують функціональний стан різних субпопуляцій Т-лімфоцитів, свідчили про істотне пригнічення цієї ланки імунітету у хворих з гепатоцелюлярним раком (група 4) і гемангіомами (група 1) (табл. 3).

В 3-й групі хворих з абсцесами печінки виявили пригнічення CD3<sup>+</sup> Т-лімфоцитів за рахунок хронічної інтоксикації з наступним виснаженням функції й значну активацію CD8<sup>+</sup> Т – кіллерної субпопуляції Т-лімфоцитів (табл. 3).

Характерним є зниження Т-клітинного імунітету у хворих з новоутвореннями (гемангіомами та гепатоцелюлярним раком), оскільки одна з основних функцій Т – клітинної системи імунітету – це імуногенетичний контроль, спрямований проти росту й метастазування пухлин.

Таблиця 3

Показники експресії кластерів диференціювання CD на Т-лімфоцитах у хворих с осередковими захворюваннями печінки

Показник	Контрольна група	Гемангіома печінки	Кіста печінки	Абсцес печінки	Гепато-целюлярний рак	
CD2 <sup>+</sup>	%	16,3±3,4	22	25,0 ± 4,0	25,7 ± 4,4	24,7 ± 2,8
	абс.	0,482 ± 0,039	0,260	0,435± 0,147	0,237±0,038	0,287± 0,063
CD3 <sup>+</sup>	%	62,0±6,5	30	36,0 ± 0,2	39,0 ± 2,7	40,1 ± 3,5
	абс.	1,020 ± 0,063	0,360	0,710± 0,085	0,370±0,033	0,460 ± 0,96
CD4 <sup>+</sup>	%	38,3±6,5	18	20,5 ± 2,2	18,7 ± 3,4	24,3 ± 2,4
	абс.	0,580 ± 0,082	0,220	0,410± 0,070	0,170±0,030	0,263± 0,050
CD8 <sup>+</sup>	%	23,4±4,4	12	15,5 ± 0,3	20,3 ± 0,8	16,4 ± 2,3
	абс.	0,260 ± 0,048	0,140	0,300± 0,015	0,200±0,030	0,202± 0,048
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>		2,0 ± 0,1	1,6 ± 0,25	1,4 ± 0,17	1,5 ± 0,1	0,97 ± 0,21

Зміни показників CD3<sup>+</sup> і CD8<sup>+</sup> можуть бути використані в якості прогностичного тесту важкості стану й результату захворювання.

В таблиці 4 наведені дані щодо особливості ка-

таболізму макромолекул, які характеризуються змінами концентрації пептидів середньої молекулярної маси у хворих з деякими видами патології печінки, які досліджувалися у роботі.

Таблиця 4

Вміст пептидів середньої молекулярної маси у хворих с осередковими захворюваннями печінки

Група	ПСММ, ум. од.
Контрольна група	233,0 ± 0,012
Гемангіома печінки	0,345 ± 0,016*
Кіста печінки	0,325 ± 0,015*
Абсцес печінки	0,391 ± 0,21*
Гепатоцелюлярний рак	0,367 ± 0,023*

\* – відмінності в порівнянні з контрольною групою достовірні (p<0,05).

Концентрація пептидів середньої молекулярної маси була достовірно підвищена у всіх обстежуваних групах хворих, ймовірно, за рахунок метаболічної активації ферментів печінки, що забезпечують індукцію катаболізму високомолекулярних антитіл і комплексів "антиген + антитіло".

Таким чином, кожна клінічна група мала індивідуальну комбінацію факторів імунної відповіді.

Група хворих з гемангіомами печінки характеризувалася пригніченням фагоцитарного індексу, зниженням адгезивних властивостей і ендцитоза нейтрофілів, істотним пригніченням клітинної ланки імунітету як засобу імуногенетичного контролю, направлено проти росту та метастазування пухлин), достовірним підвищенням концентрації пептидів середньої молекулярної маси.

Група хворих з кістами печінки характеризувалася підвищенням середніх показників величини фагоцитарного числа, багаторазовим збільшенням концентрації ЦК, 3-х кратним підвищенням концентрації IgA, максимальним підвищенням концентрації IgG, достовірним підвищенням концентрації пептидів середньої молекулярної маси, що може бути викликане метаболічною активацією ферментів печінки, які забезпечують індукцію катаболізму високомолекулярних антитіл і комплексів "антиген + антитіло" на тлі хронічного перебігу й наявності антигенної сенсibiliзації інфекційного й паразитарного генезу.

Група хворих з абсцесами печінки характеризувалася значним пригніченням фагоцитарного індексу, зниженням адгезивних властивостей і ендцитоза нейтрофілів, пригніченням CD3<sup>+</sup> Т-лімфоцитів за рахунок хронічної інтоксикації з наступним виснаженням функції й значною активацією CD8<sup>+</sup> Т – кіллерної

субпопуляції Т-лімфоцитів, багаторазовим збільшенням концентрації ЦК, підвищеною концентрацією IgA, достовірно підвищеною концентрацією пептидів середньої молекулярної маси.

Група хворих з гепатоцелюлярними карциномами не продемонструвала достовірних змін середніх значень показників фагоцитозу, але спостерігалася істотне пригнічення клітинної ланки імунітету як інструмента імуногенетичного контролю, спрямованого проти росту й метастазування пухлин, значне збільшення концентрації ЦК, достовірне підвищення змісту пептидів середньої молекулярної маси.

#### Висновки.

1. У всіх хворих з осередковими захворюваннями печінки наявні характерні зміни всіх ланок імунної системи, включаючи первинну резистентність, гуморальну й Т-клітинну ланку.

2. Пригнічений фагоцитоз нейтрофілів спостерігається у хворих з гемангіомами та абсцесами печінки, а активація первинного захисту спостерігається у хворих на кісти печінки та гепатоцелюлярний рак.

3. Зміни субпопуляцій CD3<sup>+</sup> (зниження у хворих з гемангіомами печінки та гепатоцелюлярним раком) і CD8<sup>+</sup> (підвищення у хворих з абсцесами печінки), як показників рівня інтоксикації, можуть бути використані в якості прогностичного тесту важкості стану й результату захворювання та вибору лікувальної тактики.

4. Характер змін гуморального імунітету з високими показниками IgA, багаторазовим збільшенням концентрації ЦК, достовірно підвищеною концентрацією пептидів середньої молекулярної маси обумовлює доцільність проведення детоксикаційних заходів (ентеросорбції та гемодіалізу) на етапах передопераційної підготовки хворих з абсцесами печінки.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ахаладзе Г.Г. Абсцессы печени / Ахаладзе Г.Г., Церетели И.Ю. // *Анналы хирургической гепатологии*. — 2006. — Т.11, № 1. — С. 97—105.

2. Вишнеvский В.А. Операции на печени / Вишнеvский В.А., Кубышкин В.А., Число А.В., Икрамов Р.З. — Миклош, 2003. — 156 с.
3. Ерюхин И.А. Хирургические инфекции / Ерюхин И.А., Гельфанд Б.Р., Шляпников С.А. — СПб.: Питер, 2003. — 858с. (Руководство).
4. Журавлев В.А. Очаговые заболевания печени и солидные опухоли, осложненные механической желтухой / Журавлев В.А. — Саратов, 1992. — С. 206.
5. Иванова Ю.В. Иммунокоррекция у больных с тяжелыми послеоперационными гнойно-септическими осложнениями / Иванова Ю.В., Гусак И.В., Климова Е.М., Дроздова Л.А.: материалы Научно-практической конференции [«Актуальные вопросы клинической и лабораторной иммунологии, аллергологии и иммуно-реабилитации»], (Киев, 25-26 апреля 2007г.). — Киев, 2007. — С. 87.
6. Карюнова М.И. Иммунокорректирующая терапия при хирургической инфекции / Карюнова М.И., Пинегин Б.В., Хайтов Р.М. // Анналы хирургической гепатологии. — 2006. — Т.11, № 1. — С. 88—96.
7. Федоров В.Д. Основные осложнения обширных резекций печени и пути их предупреждения / Федоров В.Д., Вишнеvский В.А., Назаренко Н.А. [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. — 2007. — № 3. — С. 16—21.
8. Малий В.П. Перспективи використання методів цілеспрямованої імунотерапії в гепатології / [Малий В.П., Волобуєва О.В., Клімова О.М.] // Клінічна імунотерапія, аллергологія, інфектологія. — 2008. — № 6—8. — С. 11.—12.
9. Ralls P.W. Focal inflammatory disease of the liver / Ralls P.W. // Radiologic Clinics of North America. — 1998. — Vol. 36. — P.377—389.

KLIMOVA E.M., GUSAK I.V., DROZDOVA L.A., KALASHNIKOVA YU.V.

*Institute of general and urgent surgery, Kharkiv*

#### FEATURES OF THE IMMUNOREACTIVITY AT PATIENTS WITH FOCAL LIVER LESIONS

There was carried out a complex research of changes of general and humoral immunoresistance and cellular immunity at patients with focal diseases of liver (hemangioma, cyst, abscesses, hepatocellular carcinomas). Methods of light and fluorescent microscopy for research of phagocytosis and T-cellular immunity were used. Humoral factors were investigated by means of enzyme immunoassay, spectrophotometry and turbidimetry. The patients of all surveyed groups had characteristic changes of all immune system links, including a humoral and T-cellular link. Changes of subpopulations CD3<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> as level indicators of intoxication can be used as the prognostic test of grave condition and result of disease. Character of changes of humoral immunity with high IgA indicators causes expediency of carrying out of disintoxic actions (enterosorption) at stages of preoperative preparation of patients with focal diseases of liver.

**Key words:** focal diseases of liver, hemangioma, cyst, abscess, hepatocellular carcinoma, humoral immunoresistance, T-cellular immunity

**Стаття надійшла до редакції: 4.04.2011 р.**