

## Особливості локальних імунних реакцій у товстій кишці при резекції різних об'ємів паренхіми печінки

**Мета роботи:** вивчити особливості локальних імунних реакцій у товстій кишці при видаленні різних об'ємів паренхіми печінки.

**Матеріали і методи.** Проведено дослідження локальних імунних реакцій товстої кишки 75 білих щурів-самців: 15 інтактних тварин, 30 щурів після резекції лівої бокової частки – 31,5 % паренхіми печінки та 30 тварин після видалення лівої та правої бокових часток – 58,1 % паренхіми печінки. У слизовій оболонці дослідного органа визначали рівні секреторного JgA, а також кількість плазмоцитів-продуцентів JgA, JgM, JgG, JgE. Кількісні показники обробляли статистично.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Встановлено, що резекція 58,1 % паренхіми печінки призводить до пострезекційної портальної гіпертензії та суттєвих порушень місцевого імунного гомеостазу товстої кишки, що характеризуються зниженням рівнів секреторного JgA і кількості плазмоцитів-продуцентів JgA, незбалансованим зростанням та значними змінами співвідношень між імуноцитами, що синтезують імуноглобуліни JgA, JgM, JgG, JgE, появою імунних комплексів у стромі та кровоносних судинах. Ступінь змін місцевих імунних реакцій корелює із глибиною та поширення гемодинамічних розладів, дистрофічними, некробіотичними, інфільтративними та склеротичними процесами у досліджуваному органі.

**Ключові слова:** резекція печінки; товста кишка; місцевий імунітет.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Резекція печінки нерідко виконується сьогодні у хірургічних клініках лікувальних закладів при доброякісних та злоякісних пухлинах, метастазах, травмах печінки, внутрішньопечінковому холангіолітазі, альвеолярному ехінококозі, трансплантації печінки [3, 4].

Структурно-функціональним змінам печінки при її резекції присвячена низка робіт [3], проте місцеві імунні реакції у травному каналі при вказаних оперативних втручаннях висвітлені недостатньо. Вирішення даного питання є не тільки теоретично важливим, але й набуває актуальності в клінічній практиці.

Відомо, що резекція великих об'ємів паренхіми печінки може призводити до розвитку пострезекційної портальної гіпертензії та складних загальнобіологічних процесів, які виникають і розвиваються при цьому в органах і системах організму при його адаптації до нового рівня життєдіяльності [3, 4].

Відомо, що при патологічних ураженнях тонкої та товстої кишок змінюється місцевий імунний гомеостаз, який є частиною загального імунітету організму [9, 10, 11]. Варто вказати, що детальне та об'єктивне знання локальних імунних процесів у слизовій оболонці товстої кишки при резекціях різних об'ємів печінки, їхньої ролі у розвитку поліорганної недостатності до сьогодні досліджували мало і потребують свого вирішення.

**Мета роботи:** вивчити особливості локальних імунних реакцій у товстій кишці при видаленні різних об'ємів паренхіми печінки.

**Матеріали і методи.** Імуноморфологічне дослідження товстої кишки виконане на 75 статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 172–180 г, які були розділені на 3 групи. 1-шу групу склали 15 інтактних практично здорових експериментальних тварин після лапаротомії, 2-гу – 30 щурів після резекції лівої бокової частки печінки, що складало 31,5 % об'єму її паренхіми, 3-тю – 30 тварин після видалення лівої та правої бокових часток печінки, що дорівнювало 58,1 % об'єму паренхіми вказаного органа [4]. Евтаназію щурів здійснювали кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу через 30 днів від початку дослідження. Вирізани шматочки із товстої кишки фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну і після відповідного проведення через етилові спирти зростаючої концентрації поміщали у парафінові блоки. Мікротомні зрізи товщиною 5-6 мкм після депарафінізації забарвлювали гематоксилін-еозином, за ван-Гізоном, Маллорі, Вейгертом, Массоном, толуїдиновим синім [2]. При визначенні плазматичних клітин-продуцентів Jg A, JgM, JgG, JgE мікротомні зрізи товстої кишки обробляли моноспецифічними антисироватками проти вказаних класів імуноглобулінів, кон'югованими із ізотіоціанатом флуоресцеїну, застосовуючи прямий метод Кунса з відповідними контролями. У люмінесцентному світлі підраховували плазматичні клітини, що давали специфічне світіння, на 1 мм<sup>2</sup> слизової оболонки дослідного органа [8]. Визначалося також число клітин в інфільтратах на вказаній площі тканин дослідного органа (КЩІ).

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вміст секреторного JgA (SJgA) оцінювали методом роздільної імунодифузії в агарі з специфічною сироваткою проти SJgA [8].

Необхідно зазначити, що утримання експериментальних тварин, виконання досліджень та їх евтаназію проводили з дотриманням “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та відповідно до “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в дослідних та інших наукових цілях” (Страсбург, Франція, 1986) [7], а також Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (від 21.02.2006).

Отриманий в результаті проведених досліджень цифровий матеріал було систематизовано та оброблено статистично. Обробку кількісних показників виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. Достовірність різниці між порівнювальними імуноморфологічними показниками визначали за t-критерієм Стьюдента та U-критерієм Манна – Уїтні. Виявлену різницю вважали статистично достовірною при  $p < 0,05$  [1, 5].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Проведеними дослідженнями та отриманими результатами встановлено, що резекція лівої та правої бокових часток печінки, що складало 58,1 % її паренхіми, призводила до розвитку пострезекційної портальної гіпертензії. Остання характеризувалася розширенням та повнокрів'ям ворітної печінкової вени, повнокрів'ям та розширенням брижових вен, венозного русла тонкої та товстої

кишок, спленомегалією, асцитом. Описане свідчило про наявність пострезекційної портальної гіпертензії [6].

Отримані показники місцевих імунних реакцій у товстій кишці експериментальних тварин представлено в таблиці. Усесторонній аналіз вказаних даних дав змогу встановити, що найбільше були виявлені змінені у 3-й групі спостережень (видалення 58,1 % паренхіми печінки). Так, у 2-й групі спостережень кількість плазматичних клітин із JgA статистично достовірно ( $p < 0,05$ ) зросла з  $(312,5 \pm 2,7)$  до  $(325,7 \pm 3,3)$ , тобто на 4,2 %. У 3-й групі спостережень (видалення 58,1 % паренхіми печінки) число вказаних клітин із вираженою статистично достовірною різницею ( $p < 0,001$ ) зменшилося на 9,8 %.

При резекції 31,5 % паренхіми печінки кількість плазматичних клітин з JgM збільшилася всього на 0,9 % ( $p > 0,01$ ) порівняно з аналогічною контрольною величиною. У 3-й групі спостережень досліджуваній імуноморфологічний показник збільшився на 56,1 % ( $p < 0,001$ ). По-різному змінювалося також число плазматичних клітин з JgG. Так, у контрольних спостереженнях вказаний імуноморфологічний показник дорівнював  $(76,9 \pm 0,6)$ , у 2-й –  $(80,1 \pm 0,9)$ , у 3-й –  $(130,7 \pm 0,9)$ . При цьому остання цифрова величина з вираженою статистично достовірною різницею ( $p < 0,001$ ) перевищувала аналогічну контрольну на 69,9 %.

Майже аналогічно змінювалася кількість плазмоцитів з JgE. Так, у контрольних спостереженнях кількість плазмоцитів-продуцентів JgE становила  $(28,6 \pm 0,3)$ , у 2-й групі (видалення 31,5 % паренхіми печінки) –  $30,2 \pm 0,6$ . Між наведеними кількісними величинами встановлено статистично достовірну різницю ( $p < 0,05$ ) й останній показник

**Таблиця. Локальні імунні реакції в слизовій оболонці товстої кишки експериментальних тварин ( $M \pm m$ )**

Показник	Група спостереження		
	1-ша	2-га	3-тя
Плазматичні клітини з JgA	$312,5 \pm 2,7$	$325,7 \pm 3,3^*$	$281,7 \pm 2,4^{***}$
Плазматичні клітини з JgM	$188,6 \pm 1,5$	$190,3 \pm 1,8$	$294,4 \pm 1,8^{***}$
Плазматичні клітини з JgG	$76,9 \pm 0,6$	$80,1 \pm 0,9$	$130,7 \pm 0,9^{***}$
Плазматичні клітини з JgE	$28,6 \pm 0,3$	$30,2 \pm 0,6^*$	$37,5 \pm 0,3^{***}$
SJgA, г/л	$0,722 \pm 0,018$	$0,740 \pm 0,015$	$0,640 \pm 0,015^{***}$
КЩЦ	$6230,2 \pm 33,6$	$6360,4 \pm 33,3^*$	$8510,3 \pm 42,6^{***}$

Примітки. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з 1-ю групою.

перевищував попередній на 5,6 %. При видаленні 58,1% паренхіми печінки досліджуваний показник дорівнював  $37,5 \pm 0,3$ . Даний імуноморфологічний параметр статистично достовірно ( $p < 0,001$ ) відрізнявся від аналогічного контрольного на 31,1 %.

Проведені дослідження та отримані дані дали змогу встановити, що рівень секреторного імуноглобуліну А у вказаних групах спостереження змінювався. Так, у 2-й групі спостережень вказаний імуноморфологічний показник зріс на 2,5 % ( $p < 0,05$ ). При видаленні 58,1 % паренхіми печінки рівень секреторного імуноглобуліну А у слизовій оболонці товстої кишки статистично достовірно ( $p < 0,001$ ) зменшився на 11,3 %.

Клітинна щільність інфільтрату в слизовій оболонці товстої кишки в умовах змодельованого експерименту зростала. Так, у 1-й групі спостережень (контрольна) вказаний кількісний морфологічний показник дорівнював  $6230,2 \pm 33,6$ , у 2-й –  $6360,4 \pm 33,3$ . Останній показник перевищував попередній на 2,1 % ( $p < 0,05$ ). У 3-й групі спостережень (видалення 58,1 % паренхіми печінки) клітинна щільність інфільтрату дорівнювала  $8510,3 \pm 42,6$ . Наведений кількісний морфологічний показник виявився вищим від аналогічного контрольного на 36,6 % ( $p < 0,001$ ).

Відомо, що важливою ланкою локального імунного гомеостазу слизових оболонок шлунково-кишкового тракту та дихальних шляхів є SJgA, який забезпечує “першу лінію захисту” вказаних структур від пошкоджувальних агентів. Згідно з сучасними науковими даними секреторний JgA відіграє найважливішу роль у місцевому імунному захисті слизових оболонок, пригнічуючи здатність вірусів та бактерій до адгезії на поверхні епітеліальних клітин [11, 12]. Істотне зниження рівня SJgA у слизовій оболонці товстої кишки при пострезекційній портальній гіпертензії, тобто через місяць після резекції 58,1 % паренхіми печінки, свідчить про значне пошкодження цього імунного захисту, тобто порушення локального імунного гомеостазу. Істотне нерівномірне, диспропорційне зростання при цьому плазмоцитів-продуцентів JgM, JgG, JgE, виражене порушення співвідношень між ними вказувало на напруженість та нестабільність локальних імунних реакцій у слизовій оболонці товстої кишки [8].

Потрібно також вказати, що більшість імунокомпетентних клітин локалізувалася у поверхневих ділянках слизової оболонки товстої кишки. Серед них виявляли Т-лімфоцити, що відповідають за специфічну антигенну стимуляцію, беруть участь у реакціях підвищеної чутливості сповільненого типу, підвищують активність макрофагів шляхом взаємодії з попередниками антитілоутво-

ривальних клітин, а також плазматичних клітин, які виникають із В-лімфоцитів і беруть активну участь в імунних реакціях, завдяки властивості продукувати білки-імуноглобуліни. В умовах пострезекційної портальної гіпертензії у слизовій оболонці товстої кишки та її власній пластинці з’являлися імунні комплекси і дегранульовані тканинні базофіли. Імунні комплекси, а також JgM та JgG фіксувалися переважно у стінках гемокапілярів та кровеносних судин.

Встановлену та описану імунну відповідь у слизовій оболонці товстої кишки в умовах пострезекційної портальної гіпертензії деякі дослідники вважають розбалансованою та суттєво порушеною [11, 12].

При гістологічному дослідженні мікропрепаратів товстої кишки переважно у 3-й групі спостережень виявляли виражені судинні розлади (повнокрів’я переважно венозних судин, явища перивазального набряку, стази, сладжі, поодинокі тромбози у венозній частині мікрогемодиркуляторного русла, осередки діапедезних крововиливів), дистрофічні, некробіотичні зміни епітеліоцитів, ендотеліоцитів, стромальних структур, інфільтративні та склеротичні процеси. Домінували описані патогістологічні зміни у стінці дослідного органа через місяць після резекції 58,1 % паренхіми печінки, тобто в умовах пострезекційної портальної гіпертензії. Варто також зазначити, що виявлені патогістологічні ушкодження стінки товстої кишки при резекції печінки корелювали з дослідними імуногістологічними показниками. При значних відхиленнях імуноморфологічних параметрів товстої кишки від контрольних величин в оболонках дослідного органа спостерігалися більш виражені та розповсюджені патогістологічні процеси. Існує думка, що напруженість та виражені зміни імунного захисту слизових оболонок травного тракту призводять до суттєвих порушень тканинного та клітинного структурного гомеостазів [8]. Отримані дані свідчать, що локальні імунні процеси відіграють важливу роль у морфогенезі товстої кишки при тривалій пострезекційній портальній гіпертензії.

**Висновки.** Проведені дослідження та отримані результати свідчать, що резекція 58,1 % паренхіми печінки в статевозрілих білих щурів-самців призводить до пострезекційної портальної гіпертензії та виражених порушень локального імунного гомеостазу у слизовій оболонці товстої кишки, які характеризуються зниженням рівнів секреторного JgA і кількості плазмоцитів-продуцентів JgA, незбалансованим зростанням та значними змінами співвідношень між імуноцитами, що продукують імуноглобуліни JgA, JgM, JgG, JgE, появою

імунних комплексів у стромі органа та його кровоносних судинах. Ступінь змін місцевих імунних реакцій корелює із глибиною та поширенням гемодинамічних розладів, дистрофічними, некробіотичними, інфільтративними та склеротичними процесами у дослідному органі.

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

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 2002. – 240 с.
2. Методики морфологічних досліджень / М. М. Багрій, В. А. Діброва, О. Г. Попадинець, М. І. Грищук. – Вінниця : Нова книга, 2016. – 328 с.
3. Вишневецький В. А. Сегментарне резекції, отдаленные результаты при злокачественных опухолях печени / В. А. Вишневецький, М. Г. Ефанов, И. В. Казаков // Укр. журнал хірургії. – 2012. – № 1 (16). – С. 5–15.
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. Гржибовський А. І. Сравнение количественных данных двух парных выборок с внедрением программного обеспечения Statistica і SPSS: параметрические и непараметрические критерии / А. И. Гржибовский, О. В. Иванов, М. А. Горбатова // Наука и здравоохранение. – 2016 – № 3. – С. 5–25.
6. Дзигал О. Ф. Формування полісиндромної недостатності хворих на цироз печінки з портальною гіпертензією / О. Ф. Дзигал // Вісник наукових досліджень. – 2017. – № 2. – С. 88–92.
7. Запорожан В. М. Біоетика та біобезпека / В. М. Запорожан, М. Л. Аряєв. – Київ : Здоров'я, 2013. – 456 с.
8. Кімакович В. Й. Імунна система шлунково-кишкового тракту в нормі та патології / В. Й. Кімакович, В. В. Чопяк, О. В. Бродик. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2010. – 100 с.
9. Лобко К. А. Активність стану місцевого імунітету при хронічному тонзиліті у вагітних / К. А. Лобко, О. Ф. Мельников, В. В. Кішук // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2011. – № 4. – С. 28–33.
10. Незгода І. І. ГКІ: актуальна проблема сьогодення / І. І. Незгода // Дитячий лікар. – 2012. – № 8. – С. 34–37.
11. Gorden J. Host immune response to antibiotic perturbation of the microbiota / J. Gorden // *Mucosal Immunology*. – 2010. – Vol. 3. – P. 100–105.
12. Shin D. O. Immunopatogenesis of inflammatory bowel disease / D. O. Shin, S. R. Targan // *World J. Gastroenterology*. – 2008. – Vol. 14, No. 3. – P. 390–400.

### REFERENCES

1. Avtadnilov, G.G. (2002). *Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii [Basis of quantitative pathological anatomy]*. Moscow: Meditsyna [in Russian].
2. Bahrii M.M., Dibrova V.A., Popadynets O.H., & Hryshchuk, M.I. (2016). *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen [Methods of morphological research]*. Vinnytsia: Nova knyha; [in Ukrainian].
3. Vishnievskiy, V.A., Jefanov, M.H., & Kazakov, J.V. (2012). Segmentarnye rezeksii, otdalennye rezultaty pri zlokachiestvnykh opukholyakh pechieni [Segmentar resections, long-term results in malignant liver tumors]. *Ukrainskiy zhurnal khirurgii – Ukrainian Journal of Surgery*, 1 (16), 5-15 [in Ukrainian].
4. Hnatiuk, M.S., Tatarchuk, L.V. & Yasinovskiy, O.B. (2016). Morfometrychna otsinka osoblyvosti remodeliuvania struktur dvanadtsiatypaloi kyshky pry rezeksii riznykh obiemiv pechinky [Morphometric evaluation of the features of remodeling of duodenal structures during resection of different volumes of the liver]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seriya “Medytsyna” – Scientific Herald of Uzhhorod University. Series “Medicine”*, 1 (49), 3-5 [in Ukrainian].
5. Grzhibovsky, A.I., Ivanov, O.V., & Gorbatova, M.A. (2016). Sravnennia kolichestvennykh dannykh dvukh parnykh vyborok s ispolzovaniyam programnogo obespechenia Statistica і SPSS; parametricheskie і neparametricheski criteria [Comparison of Quantitative Data of Two Paired Samples Using Statistica and SPSS Software: Parametric and Nonparametric Tests]. *Nauka і zdorovokhranenie – Science and Health*, 3, 5-25 [in Russian].
6. Dzyhal, O. F. (2017). Formuvannia polisindromnoi nedostatnosti khvorykh na tsyroz pechinky z portальною hipertenzією [Formation of polysyndromic insufficiency of patients with liver cirrhosis with portal hypertension]. *Visnyk naukovykh doslidzhen – Bulletin of Scientific Research*, 2, 88-92 [in Ukrainian].
7. Zaporozhan, V.M., & Ariaiev, M.L. (2013). *Bioetyka ta biobezpeka [Bioethics and biosafety]*. Kyiv: Zdorovia [in Ukrainian].
8. Kimakovich, V.Y., Chopyak, V.V., & Brodik, O.V. (2004). *Imunna sistema shlunkovo-kyshkovoho traktu v normi ta patolohi [The immune system of the gastrointestinal tract in normal and pathology]*. Ternopil: Ukrmedknyha [in Ukrainian].
9. Lobko, K.A., Melnykov, O.F., & Kishchuk, V.V. (2011). Aktivnist stanu mistsevoho imunitetu pry khronichnomu tonzyliti u vahitnykh [Activity of the state of local immunity in chronic tonsillitis in pregnant women]. *Zhurnal vushnykh, nosovykh і horlovykh khvorob – Journal of Ear, Nose and Throat Diseases*, 4, 28-33 [in Ukrainian].
10. Nezgod, I.I. (2012). GKI: aktualna problema sohodennia [SII: the current problem of the present]. *Dytiachyi likar – Pediatrician*, 8, 34-37 [in Ukrainian].
11. Gorden, J. (2010). Host immune response to antibiotic perturbation of the microbiota. *Mucosal Immunology*, 3, 100-105.
12. Shin, D.O., & Targan, S.R. (2008). Immunopatogenesis of inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterology*, 14 (3), 390-400.

Отримано 21.01.2022

Електронна адреса для листування: hnatjuk@tdmu.edu.ua

M. S. HNATIUK, O. M. PROTSALO, L. V. TATARCHUK, N. YA. MONASTYRSKA

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

**FEATURES OF LOCAL IMMUNE REACTIONS IN THE LARGE INTESTINE AT RESECTION OF DIFFERENT VOLUMES OF THE LIVER PARENCHYMA**

**The aim of the work:** to study the features of local immune reactions in the large intestine at removing different volumes of the liver parenchyma.

**Materials and Methods.** The local immune responses of the large intestine of 45 white male rats were studied: 15 intact animals, 30 rats after resection of the left lateral lobe – 31.5 % of the liver parenchyma and 30 animals after removal of the left and right lateral lobes – 58.1 %) of the liver parenchyma. The levels of secretory JgA, as well as the number of plasmocytes-producing JgM, JgG, JgE were determined in the mucous membrane of the studied organ. Quantitative indicators were processed statistically.

**Results and Discussion.** Resection of 58.1 % of the liver parenchyma was found to lead to postresection portal hypertension and significant disturbances of local immune homeostasis of the large intestine, characterized by decreased levels of secretory JgA and the number plasmocytes with JgA, unbalanced growth and significant changes in the relationship between plasmocytes with JgM, JgG, JgE, the appearance of immune complexes in the stroma and blood vessels. The degree of changes in local immune responses correlates with the depth and prevalence of hemodynamic disorders, dystrophic, necrobiotic, infiltrative and sclerotic processes in the studied organ.

**Key words:** liver resection; large intestine; local immunity.