

СОСТОЯНИЕ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ХОЛАНГИТЕ

Палиенко Р.К.

Киев

Введение. Взаимоотношения между гепатобилиарной и иммунной системами организма сложны и многогранны. В настоящее время имеются лишь немногочисленные экспериментальные и клинико-лабораторные работы, посвященные изучению факторов местного иммунитета гепатобилиарной системы (Е.А.Вагнер и др., 1984; В.С.Земсков и др., 1989; С.Логинов и др., 1984; K.Miller and S.Nicklin, 1987).

Печень имеет широкий спектр специфических антигенов, принимает участие в синтезе и транспорте уноглобулинов, компонентов комплемента, ингибирования чужеродных антигенов различной специфичности, в том числе бактериальных, элиминации иммунных комплексов и др. (А.С.Логинов и др., 1986; Л.А.Ковальчук и др., 1989; А.Ф.Греджев и др., 1990). Вместе с тем, вопросы, касающиеся конкретных механизмов иммунной реакции при холангитах, патогенетической роли, диагностической и прогностической ценности все еще далеки от окончательного решения (Р.Г.Скворцова и др., 1991).

Изучение факторов местного иммунитета при острых холангитах ограничиваются, как правило, микроскопией желчи с выявлением в ней лейкоцитов. Исследование желчи в различные сроки после ее забора, из-за литических свойств желчи приводит к изменениям ее состава, отсутствие общепринятых методик исследования желчи, смешение желчи с эпителием и секретом двенадцатиперстной кишки при исследовании методом дуоденального зондирования и с кровью при заборе желчи во время операций, нарушают чистоту экспериментов и не вносят ясности в решение вопросов местного иммунитета желчевыводящей системы, что и обуславливает дальнейшие исследования.

Целью изучения местных факторов иммунитета у больных с острым холангитом, было выяснение механизмов защитной реакции в ответ на острое воспаление в желчных протоках.

Материалы и методы. Иммунологическое исследование желчи проведено у 25 больных – у 14 пациентов с острым калькулезным холециститом,

осложненным холедохолитиазом и острым холангитом (1 группа) и у 9 больных с хроническим калькулезным холециститом, который был подтвержден при патоморфологическом исследовании (2 группа).

Забор желчи из желчного пузыря и желчных протоков производили во время операции путем пункции, а в послеоперационном периоде из дренажа установленного в желчных протоках. Проводили исследование клеточного состава желчи в световом микроскопе при увеличении в 500 раз, выделение нейтрофилов и определение их функциональной активности методами нитросинего-тетразолиевого теста (НСТ-теста) с использованием грибков вида *Candida albicans* и фагоцитоза, а также определение содержания в протоковой и пузырной желчи иммуноглобулинов *ig A*, *ig G*, *ig M* в послеоперационном периоде.

Выделение нейтрофилов производили путем центрифугирования 1 мл желчи при 1000 об/мин в течении 10 мин, затем надосадочную жидкость сливали, добавляли в пробирку 3 мл физиологического раствора хлорида натрия, отмывали двукратно клетки при 1000 об/мин в течении 10 мин. Отмытые нейтрофилы ресуспендировали в 0,05 мл физиологического раствора с последующим изучением их активности методами нитросинего-тетразолиевого теста по методу Park в модификации Е.И.Шмелева и фагоцитоза по методу Е.Ф.Чернушенко.

Фагоцитарную активность выделенных нейтрофилов желчи оценивали по двум показателям - по процентному количеству активности клеток и по фагоцитарному числу. Высчитывали процент фагоцитирующих клеток и количество частичек *Candida albicans*, поглощенных в среднем одним нейтрофилом - фагоцитарное число.

Уровни иммуноглобулинов *ig A*, *ig G*, *ig M* в желчи определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по G.Mancini. Готовили 2% раствор агара Difco на медиал-вероналовом буфере с pH-8,6, а также рабочие разведения стандартных сывороток. Вносили их в агар и образовавшуюся смесь вливали в чашки Петри. После затвердения

образовавшихся пластинок, в них делали пробойником лунки диаметром 2,5 мм на расстоянии 25 мм. В каждую лунку вносили микрошприцем по 2 мкл/10 л желчи и в 4 лунки стандартную эталонную сыворотку для *ig* (цельную в одну лунку, а в 3 другие в разведении 1:2, 1:4, 1:8). Пластинки выдерживали во влажной камере в течение 24 часов для *ig G* и *ig A*, а для *ig M* в течение 48 часов. Содержание иммуноглобулинов в желчи определяли в зависимости от диаметров преципитата путем построения графиков на логарифмической бумаге.

Результаты и их обсуждение. При микроскопии желчи у 10 больных первой группы и 5 больных второй группы в протоковой желчи выявлялись иммунокомпетентные клетки.

У больных с острым холангитом (1 группа) при микроскопии желчи, взятой из общего желчного протока во время операции, выявлялись иммунокомпетентные клетки в ассоциации с микроорганизмами, причем у 7 из них клетки обнаружены в значительном количестве. У всех этих больных преимущественно выявлялись нейтрофилы, а их процентное содержание было в пределах 74-92%. На втором месте по количеству были представлены лимфоциты, содержание которых было в пределах 8-14%. Макрофаги были выявлены у 3 больных, причем лишь у одного больного одновременно выявлялись нейтрофилы и макрофаги.

При исследовании желчи, взятой из дренажа, установленного в общем желчном протоке на 4, 7, 10 сутки, у 9 больных с острым холангитом (1 группа) выявлялись лимфоциты или в значительном количестве, или единичные, тогда как остальные клетки моноцитарно-макрофагальной системы были выявлены не у всех больных. Кроме того, у 3 больных лимфоциты образовывали спонтанные розетки с культурой грибов рода *Candida*.

У 2 больных с острым холангитом, у которых не были выявлены клетки, течение заболевания было затяжным, и у одного из них осложнилось местным ограниченным желчным перитонитом.

При исследовании клеточного состава желчи у больных второй группы, только у 5 на момент операции в протоковой желчи были выявлены иммунокомпетентные клетки, причем у 4 из них это были единичные лимфоциты и нейтрофилы, и только у 1 больного клеточный состав был значительным (92% нейтрофилов, 8% лимфоцитов — на момент операции, 16 нейтрофилов, 2 макрофага, 2 моноцита, 3 лимфоцита — на 7 суток после операции в протоковой желчи из дренажа). У остальных больных клетки не обнаруживались.

У 6 больных первой группы и 3 больных второй группы удалось выделить из желчи нейтрофилы и определить их фагоцитарную активность. Фагоцитарный индекс (процентное отношение активных нейтрофилов к общему их количеству) в первой группе был в пределах от 38% до 78%, а фагоцитар-

ное число было в пределах от 1,3 до 6,14 (в среднем 3,95), причем была отмечена тенденция увеличения как фагоцитарного числа, так и фагоцитарного индекса к 7-10 суткам послеоперационного периода. У больных второй группы фагоцитарное число было в пределах от 2 до 5,6 (в среднем 3,47), а фагоцитарный индекс нейтрофилов удалось определить лишь у одного больного и он составил 91%.

У 14 больных первой группы было изучено содержание иммуноглобулинов в пузырной и протоковой желчи во время операции, а также динамика изменения количества иммуноглобулинов в протоковой желчи после холецистэктомии и наружного дренирования желчных протоков.

При изучении количественного состава иммуноглобулинов класса А, М, G в пузырной и протоковой желчи у больных с острым холециститом, осложненным острым холангитом было выявлено, что содержание *ig G* и *Ig M* в протоковой желчи выше, чем в пузырной, а содержание *ig A*, в протоковой желчи несколько меньше.

Содержание *ig G* в протоковой желчи у больных с острым холангитом при остром осложненном холецистите на момент операции составило $0,94 \pm 0,04$ г/л, а в пузырной — $0,56 \pm 0,02$ г/л. Содержание *ig A*, соответственно $0,385 \pm 0,045$ г/л и $0,46 \pm 0,12$ г/л, а *ig M* — $0,54 \pm 0,16$ г/л и $0,455 \pm 0,015$ г/л.

При изучении количественного содержания иммуноглобулинов в различные сроки послеоперационного периода в протоковой желчи у 14 больных с острым холециститом, осложненным острым холангитом, было выявлено, что количественное содержание *ig G* почти равно общему количеству *ig A* и *ig M* вместе взятых, а также было выявлено, что у выздоравливающих больных, наблюдается тенденция к снижению определяемых классов иммуноглобулинов к 6-7 суткам послеоперационного периода с последующей стабилизацией *ig G* на уровне $0,49 \pm 0,16$ г/л, *ig A* — $0,18 \pm 0,02$ г/л и *ig M* — $0,335 \pm 0,085$ г/л.

Выводы. Таким образом, проведенные исследования показывают, что при остром воспалении в желчных протоках происходит активация как клеточных, так и гуморальных факторов местного иммунитета.

При адекватном комплексном хирургическом лечении острого холангита на 6-7 сутки возрастает фагоцитарная активность нейтрофилов в желчи.

Снижение уровней иммуноглобулинов классов А, М, и G в протоковой желчи, требует иммунокоррекции в послеоперационном периоде.

Количественное изучение соотношения иммуноглобулинов классов А, М, G в различные сроки воспалительного процесса при остром холангите в протоковой желчи выявило, что соотношение *ig G* : *ig M* : *ig A* меняется незначительно и находится в соотношении 3:2:1.

Разнообразие типов иммунокомпетентных к, выявляемых в протоковой желчи больных острым холангите связано со стадией

воспаления, характером воспалительного процесса и общей реактивностью организма.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Вагнер Е.А., Котельникова Л.П., Палатова Л.Ф., Кеворков Н.Н. Иммуноглобулины желчи и сыворотки крови у больных хроническим калькулезным холециститом // Материалы третьего всесоюзного съезда гастроэнтерологов. М.-Л. 1984; Т.1, с.180-181.
2. Греджев А.Ф., Трунова О.А., Хацко В.В., Зорина С.В. Иммунореактивность у больных с патологией печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей // Клиническая хирургия. – 1990. – №9, – с.29-30.
3. Земсков В.С., Макеев А.Ф., Арикьянц М.С., Волюнец Л.Н., Буянов Д.В. Значение НСТ-теста в прогнозировании и оценке эффективности лечения осложненных форм желчнокаменной болезни. // Клиническая хирургия. 1989, №9, с.28-29.
4. Ковальчук Л.А., Вегнер И.К., Пятночка В.И. Нарушение иммунологической реактивности у больных хроническим калькулезным холециститом // Клиническая хирургия. 1989. – №9. – с.6-7.
5. Логинов А.С., Царегородцева Т.М., Зотина М.М., Серова Т.И. Иммунологические аспекты хронических заболеваний печени. В сб.: “Болезни гепатобилиарной системы и поджелудочной железы”. М. – 1984. – с.35-51.
6. Логинов А.С., Царегородцева Т.М., Зотина М.М. Иммунная система и болезни органов пищеварения. М.: Медицина. 1986. – 256 с.
7. Кворцова Р.Г., Брегель А.И., Жарская С.Л. Содержание иммуноглобулинов в желчи больных острым и хроническим холециститом. В сб.: “Актуальные вопросы реконструктивной и восстановительной хирургии”. Иркутск. – 1991. – с.288-289.
8. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.В., Голубка Т.В. с соавт. Аутоиммунные болезни и их роль в клинике внутренних болезней. К. – 1985. – 160 с.
9. Шмелев Е.И., Бумагина Т.К., Митерев Ю.Г. К оценке теста восстановления нитросинего тетразолия у больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких // Лабораторное дело. – 1979, №9, с.524-528.
10. Mancini G. Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion. Immunochemistry. 1965; 2: 235-254.
11. Miller K., Nicklin S. Immunology of the gastrointestinal tract. - USA. CRC Press, Inc., 1987. - V.1. - 134 p.
12. Park B.H., Fikrig S.M., Smithwick E.M. // Lancet. – 1968; 2, 532-534.

ЮМЕ

місцевого імунітету при холангіті

ієнко Р.К.

В роботі представлені результати вивчення кліткових і гуморальних факторів місцевого імунітету у 25 хворих з запаленням жовчних протоків - 14 з гострим і 9 з хронічним. Кількісне співвідношення імуноглобулінів класів G, M, A при гострому холангіті в протоковій жовчі вище, ніж в міхуровій, і знаходиться в співвідношенні 3:2:1. Різноманітність типів імунокомпетентних клітин, виявлених в протоковій жовчі хворих при гострому холангіті, пов'язана із стадією запалення, характером запального процесу і загальною реактивністю організму.

SUMMARY

state of local immunity in case of cholangitis

Palienko

In the article the results of the study of cell and humoral factors of local immunity in 25 patients with the inflammation of the biliary ducts - 14 with the acute and 9 with chronic. Quantitative relation of the immunoglobulines of G, M, A classes in acute cholangitis in a duct bile is higher than in bladder and is in the ratio 3:2:1. The variety of the types of the immunocompetitive cells found in the duct bile of the patients in acute cholangitis is connected with the stage of the inflammation, the character of the inflammatory process and general reactivity of an organism.