

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

На правах рукопису

СТАСЕНКО Аліна Анатоліївна

УДК: 612.017.1+616.361-002.3

ГУМОРАЛЬНІ І КЛІТИННІ ФАКТОРИ РЕГІОНАРНОГО  
І СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ГНІЙНИЙ ХОЛАНГІТ

14.03.15 - імунологія і алергологія

А в т о р е ф е р а т  
дисертації на здобуття вченого ступеня  
кандидата біологічних наук

КИЇВ - 1996



017.017

Лб. 36. 229

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті  
АМН України.

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00757191 (U)

НАУКОВІ КЕРІВНИКИ:

член-кор. НАН і АМН України, проф. ГЮЛЛІНГ Е.В.

член-кор. НАН і АМН України, проф. САЄНКО В.Ф.

ОФІЦІЙНІ ОПОНЕНТИ:

доктор медичних наук, проф. Лисяний М.І.

доктор медичних наук, проф. Мельников О.Ф.

ВЕДУЧИЙ ЗАКЛАД: Інститут урології та нефрології АМН України

Захист відбудеться " 19 " грудня 1996 р. о 13<sup>30</sup> годині на засіданні Спеціалізованої Вченої Ради Д 01.21.03 при Національному медичному університеті (Київ-57, проспект Перемоги, 34, санітарно-гігієнічний корпус, аудиторія №2).

Відгуки надсилати за адресою: 252057, Київ-57, проспект Перемоги, 34, санітарно-гігієнічний корпус.

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотечі Національного медичного університету (Київ-57, вул. Зоологічна, 1, стоматологічний корпус).

Автореферат розіслано " 18 " листопада 1996 р.

Вчений секретар Спеціалізованої Вченої Ради,

доктор медичних наук

В.Г.БОРДОНОС

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

### Актуальність проблеми.

Великий клінічний досвід свідчить, що кількість хворих з гнійними ураженнями жовчовидільної системи постійно зростає /М.И.Кузин и соавт., 1978, В.В.Петровский и соавт., 1982, В.А.Максимов, 1995/. Одним з основних методів лікування хворих на гнійний холангіт є оперативне втручання. Серед причин незадовільних результатів хірургічного лікування при цьому одне з провідних місць займає механічна жовтяниця та запальні процеси, які ускладнюють її протікання в позапечінкових жовчних протоках /В.В.Вахидов, 1980, В.В.Родионов и соавт., 1986/. Приєднання холангіту веде до смертельних наслідків у 11-60 % хворих /В.С.Земсков и соавт., 1984, А.Д.Джорабеков, Г.Г.Карамазоновский, 1986, Н.С.Богомолова и соавт., 1987/.

За останні десятиліття нагромаджено досить великий фактичний матеріал, який демонструє виражені зміни клітинного та гуморального імунітету при гнійному холангіті /М.М.Масалин и соавт., 1984, М.Е.Абеуов, 1988, В.С.Земсков и соавт., 1989, А.Ф.Греджев и соавт., 1990, Л.А.Ковальчук и соавт., 1989, R.L.E.Thompson et al., 1989/.

Разом з тим, питання, які стосуються конкретних механізмів імунних реакцій, їх патогенетичної ролі, діагностичної і прогностичної цінності все ще далекі від свого остаточного вирішення і продовжують привертати увагу дослідників /А.С.Логинов и соавт., 1984/.

Особливої уваги заслуговують питання місцевого імунітету. В наш час встановлено, що локальна імунна система функціонує в

значній мірі незалежно від системного імунітету /Метод. рекомендації, 1987/. Припускають існування в певній мірі автономної імунної системи жовчних проток /Н. Dancyger et al., 1983/. Проте, дослідження по вивченню регіонарного імунітету при гнійному холангіті нечисленні, що пов'язано з методичними складнощами /М.Е.Абеуов, 1988, U.I.H.Dahlgren et al., 1986, P.B.Wilton et al., 1987, G.Ohshio et al., 1988/.

Потреба удосконалення методів об'єктивізації діагностики, підвищення ефективності лікування хворих, контролю протікання відновлювальних процесів з використанням імунологічних критеріїв постійно зростає. Всі вищевикладені положення стали основою для проведення даного наукового дослідження.

**Мета роботи:** вивчити гуморальні і клітинні фактори регіонарного і системного імунітету при гнійному холангіті і на підставі отриманих даних об'єктивізувати діагностику цього захворювання.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити гуморальні фактори регіонарного та системного імунітету при гнійному холангіті.
2. Дослідити клітинні фактори регіонарного та системного імунітету при гнійному холангіті.
3. Провести порівняльну характеристику факторів системного та регіонарного імунітету при гнійному холангіті.
4. Об'єктивізувати діагностику гнійного холангіту.

**НАУКОВА НОВИЗНА РОБОТИ:**

Показана відносна автономність системи імунітету жовчних проток. Вперше охарактеризовані гуморальні і клітинні фактори місцевого імунітету у хворих на гнійний холангіт. Вперше дана

порівняльна характеристика функціонального стану фагоцитів жовчі та крові в процесі хірургічного лікування хворих на гнійний холангіт. Визначені найбільш інформативні імунологічні показники перебігу відновлювальних процесів у організмі хворих на гнійний холангіт. Науково обгрунтоване застосування НСТ-тесту в діагностиці гнійного холангіту.

#### **ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РОБОТИ:**

Визначені імунологічні критерії діагностики гнійного холангіту. Спосіб інтраопераційної діагностики гнійного холангіту по наявності в жовчі формаан-позитивних нейтрофілоцитів дозволив об'єктивізувати діагностику, підвищити точність діагностики даної хвороби та скоротити час, необхідний для одержання результату. Розроблений спосіб діагностики успішно апробований при виконанні оперативних втручань у відділі хірургії печінки, підшлункової залози та портальної гіпертензії ІКЕХ АМН України, кафедрі торакоабдомінальної хірургії Київського державного інституту удосконалення лікарів (72 операції).

#### **ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ, ЩО ВІНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ**

1. Науково обгрунтована наявність відносно автономної системи місцевого імунітету жовчних шляхів.
2. Найбільш суттєві зміни факторів захисту у хворих на гнійний холангіт виявлені у системі місцевого імунітету жовчних шляхів.
3. Вміст антитіл і С3-компоненту комплементу у жовчі загальної жовчної протоки у хворих на гнійний холангіт нормалізується в перші дні після операції.
4. У хворих гнійним холангітом у жовчі загальної жовчної

протоки закономірно виявляються поліморфноядерні нейтрофілоцити, які дифузно відновлюють нітросиній тетразолій.

Б. Спосіб діагностики гнійного холангіту по наявності в жовчі формазан-позитивних нейтрофілів дозволяє об'єктивізувати та підвищити точність діагностики, а також скоротити час, необхідний для одержання результату.

#### **Апробація роботи.**

Основні матеріали і положення проведених досліджень були викладені та обговорювалися на конференції молодих вчених ІКХ АМН України /Київ, 1989/, на конференціях "Актуальні питання клінічної хірургії" /Львів, 1989/, "Актуальні питання хірургії" /Київ, 1990/, "Актуальні проблеми клінічної хірургії" /Москва, 1991/, II-й міській науково-практичній конференції раціоналізаторів і винахідників /Київ, 1990/.

#### **Публікації.**

За матеріалами досліджень опубліковано 11 робіт. Отримано патент на винахід. Впроваджена одна раціоналізаторська пропозиція.

#### **Обсяг і структура роботи.**

Дисертація викладена на 120 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 15 малюнками і має 12 таблиць. Робота складається із вступу, 4 розділів, закінчення, висновків, вказівника літератури, що містить 163 джерела ( 89 вітчизняних і 74 іноземних авторів).

#### **Особистий внесок дисертанта.**

Дисертантом здійснено вибір теми дисертації, відбір і розробка методів дослідження. Автором досліджено клітинні і гуморальні фактори регіонарного і системного імунітету у 114 хворих на гнійний холангіт, 15 хворих з неускладненим калькульозним хо-

лециститом і 15 клінічно здорових донорів. Всі дані, приведені автором в дисертаційній роботі, одержані самостійно.

## ЗМІСТ РОБОТИ

### **Матеріал і методи досліджень.**

Робота базується на результатах обстеження 114 хворих, в віці від 23 до 77 років, які знаходилися на лікуванні в Інституті клінічної та експериментальної хірургії АМН України в 1988-1995 рр.

Основну групу складали хворі з непрохідністю жовчних проток доброякісного генезу, ускладненою механічною жовтяницею та гнійним холангітом.

Хворі розподілялись на дві групи: перша - рубцеві стриктури різних рівнів, друга - холедохолітиаз. Серед обстежених хворих 72 складали жінки, а 42 - чоловіки.

Обстеження проводили напередодні операції, на 1-2-у добу та 5-7-у добу після операції.

Оцінку системного імунітету здійснювали шляхом визначення наступних показників: рівня імуноглобулінів (Ig) G, A, M і C3-компоненту комплементу в сироватці крові, рівня циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові, наявності антитіл до E.coli в сироватці крові, кількості E-розеткоутворюючих клітин (E-РУК), EAC-розеткоутворюючих клітин (EAC-РУК) у периферичній крові, кількості формаган-позитивних нейтрофільних гранулоцитів у спонтанному (Сп НСТ) та стимульованому (Ст НСТ) НСТ-тестах, показника резерву (ПР), фагоцитарного індекса (ФІ) та фагоцитарного числа (ФЧ) нейтрофілів крові.

Контрольну групу склали 15 здорових донорів у віці 18-50

років.

Морфометію нейтрофілів крові проводили у 24 хворих на гнійний холангіт та у 9 здорових донорів.

Для дослідження місцевого імунітету брали проби печінкової жовчі до операції (при наявності зовнішніх жовчних фістул чи дренажів жовчних проток), під час операції, на 1-2-у та на 5-7-у добу після неї. Місцевий імунітет оцінювали способом визначення рівнів IgG, IgA, sIgA, IgM та C3-компоненту комплементу, антитіл до E.coli, імунних комплексів у жовчі. Крім того, визначали кількість формазан-позитивних клітин у Sp НСТ та St НСТ-тестах, PR нейтрофілів, виділених із жовчі, ФІ та ФЧ нейтрофілів жовчі.

Для контролю брали проби печінкової жовчі під час операції у 15 хворих неускладненим калькульозним холециститом у віці від 27 до 63 років.

Морфометрію тканинних печінкових нейтрофілів проводили у 7 хворих на гнійний холангіт. Тканинні нейтрофіли вивчали на відбитках печінки, одержаних під час операцій на жовчних шляхах.

Рівні Ig та C3-компоненту комплементу визначали методом радіальної імунодифузії в гелі за методом G.Mancini (1965).

Реакції розеткоутворення проводили за методом M.Jondal et al. (1972) (вміст E-РУК), Bianco (1970) (вміст EAC-РУК).

Виділення нейтрофілів із жовчі проводили за розробленим нами методом, пріоритетність якого захищена авторським свідоцтвом N 4871792/14/100436 (від 29.08.91 р.).

Для постановки реакції фагоцитозу використовували метод, описаний Е.Ф.Чернушенко (1986) в нашій модифікації. Метаболічну активність нейтрофілів у спонтанному НСТ-тесті визначали за методом В.Н.Park et al. (1968) у модифікації Е.И.Шмелева (1979). Для більш повної оцінки функціонального стану фагоцитів пара-

лельно застосовували НСТ-тест з використанням грибів *Candida albicans* як стимулятора фагоцитозу. Для характеристики резервних можливостей нейтрофільних гранулоцитів підраховували показник резерву, який складає різницю між змістом формаган-позитивних клітин в стимульованому та спонтанному НСТ-тестах.

Морфометричні фактори нейтрофілів оцінювали за допомогою комп'ютерного аналізатора мікроскопічного зображення. Визначали середню площу, середній периметр та середню густину нейтрофілів.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЕНЬ.

#### Стан гуморальних факторів регіонарного і системного імунітету при гнійному холангіті

В сироватці крові хворих на гнійний холангіт у вихідний період виявлено значне підвищення вмісту IgG в порівнянні з контрольною групою ( $P < 0,001$ ). Рівні IgA і IgM достовірно не відрізнялись від контрольних показників, хоча й відмічалась тенденція до їх підвищення.

Вивчення вихідних факторів регіонарного імунітету в жовчі хворих на гнійний холангіт дозволило виявити достовірне підвищення концентрацій IgG ( $P < 0,05$ ), IgA ( $P < 0,05$ ), sIgA ( $P < 0,02$ ) і С3-компоненту комплементу ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з контрольною групою.

Порівняльне вивчення вмісту імуноглобулінів в сироватці крові у хворих із стриктурою холедоха (1) і з холедохолітазом (2), ускладненими гнійним холангітом, показало зниження рівнів IgA у хворих першої групи.

У хворих на гнійний холангіт з наявністю в жовчі формаган-позитивних нейтрофілів рівень С3-компоненту комплементу

сироватки крові був вищим, ніж у хворих з відсутністю формаан-  
позитивних клітин в жовчі ( $P < 0,05$ ).

Рівні імуноглобулінів і С3-компоненту комплементу в жовчі  
із загальної жовчної протоки нормалізуються в перші дні після  
операції, що дозволяє використовувати їх для оцінки ефективності  
операцій і контролю за перебігом післяопераційного періоду  
(табл.1).

Таблиця 1

Вміст антитіл в жовчі хворих на гнійний холангіт

Показники імунітету	IgG г/л	IgA г/л	IgM г/л	sIgA г/л
Вихідні дані, n=25	1,69 $\pm$ 0,34 *	0,32 $\pm$ 0,10 *	0,29 $\pm$ 0,04	0,23 $\pm$ 0,03 **
1-2-а доба п/о, n=25	0,98 $\pm$ 0,26	0,17 $\pm$ 0,06	0,20 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,04
5-7-а доба п/о, n=25	1,04 $\pm$ 0,30	0,39 $\pm$ 0,26	0,35 $\pm$ 0,09	0,39 $\pm$ 0,08
Контрольна група, n=12	0,93 $\pm$ 0,15	0,11 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,03

Примітка:

\* -  $P < 0,05$  - відмінності між вихідними даними  
хворих і контрольною групою за  
вмістом IgG і IgA

\*\* -  $P < 0,02$  - відмінності між вихідними даними  
хворих і контрольною групою за  
вмістом sIgA

Проведені дослідження показали, що у 55 % випадків у хворих  
на гнійний холангіт у жовчі, отриманій інтраопераційно з загаль-

ної жовчної протоки виявляються антитіла до клінічного штаму E.coli. Титри антитіл складають від 1:80 до 1:640. В той же час в сироватках крові хворих на гнійний холангіт антитіла до E.coli не виявляються.

У жовчі хворих на гнійний холангіт виявляються імунні комплекси у кількості від 0,060 до 0,810 умовних одиниць, в середньому -  $(0,316 \pm 0,085)$  умовних одиниць. Відмічається тенденція до зниження імунних комплексів у жовчі хворих з наявністю антитіл у високих титрах. В той же час, в сироватці крові хворих на гнійний холангіт імунні комплекси виявляються в значно більшій кількості - від 0,520 до 1,250 умовних одиниць, в середньому -  $(0,928 \pm 0,242)$  умовні одиниці.

Одержані дані дозволяють зробити висновок про відносну автономність місцевого імунітету жовчних шляхів.

### **Клітинні фактори регіонарного і системного**

#### **імунітету при гнійному холангіті**

Достовірних відмінностей в процентному складі E- і EAC-ПУК крові у хворих в порівнянні з контрольною групою не виявлено. Однак, відмічено зниження кількості EAC-ПУК у тяжкохворих із довготривалою жовтяницею та прогресуючим гнійним холангітом. Кількість EAC-ПУК мала тенденцію до зниження у хворих із стриктурою коледоха в порівнянні з хворими коледохолітазом.

Вміст лімфоцитів у жовчі загальної жовчної протоки хворих на гнійний холангіт становив від 4 до 81 %. Лімфоцити в значній кількості в жовчі виявлялись у 43 % хворих на гнійний холангіт, переважно у осіб, раніше перехворівших вірусним гепатитом. E-ПУК складали від 2 до 68 % лімфоїдних клітин жовчі.

Дослідження метаболічної активності нейтрофілів крові в

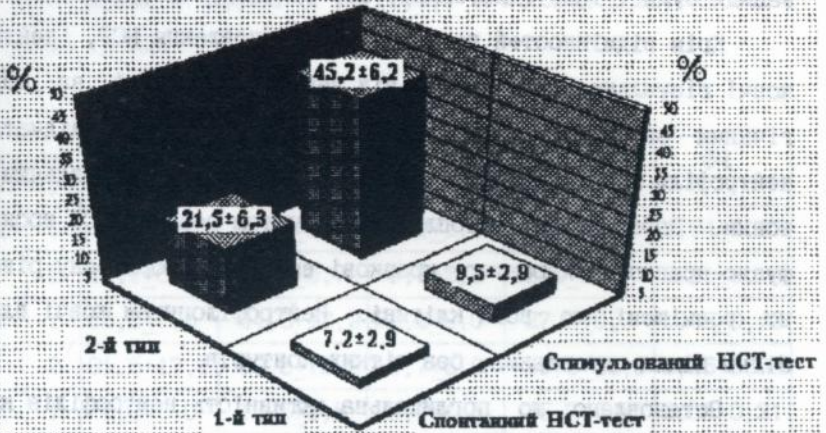
НСТ-тесті з урахуванням трьох типів розподілу продукту реакції дозволило виявити, що процент клітин першого (I) типу (дифузний) в крові у хворих на гнійний холангіт і у здорових є сталою величиною і не реагує на додаткове антигенне навантаження *in vitro*. Кількість активних нейтрофілів крові другого (II) типу (відкладання гранул) є функціонально залежним від антигенного навантаження, так як за рахунок цих клітин збільшується процент стимульованих НСТ-позитивних клітин як у хворих на гнійний холангіт, так і у здорових (мал.1).

Порівняльна характеристика формазан-позитивних нейтрофілів крові у хворих із стриктурами (1-ша група) і з холедохолітіазом (2-га група) показала наявність залежності між важкістю захворювання і кількістю клітин II типу в крові, яка проявляється як у спонтанному, так і в стимульованому НСТ-тестах. Кількість клітин II типу у хворих 1-ї групи була значно меншою, ніж у хворих 2-ї групи (мал.2).

Вирахування коефіцієнтів - співвідношень показників жовчі до показників крові - в динаміці дозволило встановити деякі закономірності. Для метаболічної активності в спонтанному НСТ-тесті і в стимульованому коефіцієнти у вихідному періоді перевищували одиницю. Коефіцієнт показника резерву метаболічної активності був також більшим від одиниці. В післяопераційному періоді вищеназвані показники зменшувались. Для коефіцієнта фагоцитарного числа була відзначена аналогічна закономірність. Коефіцієнт фагоцитарного індекса коливався в межах одиниці.

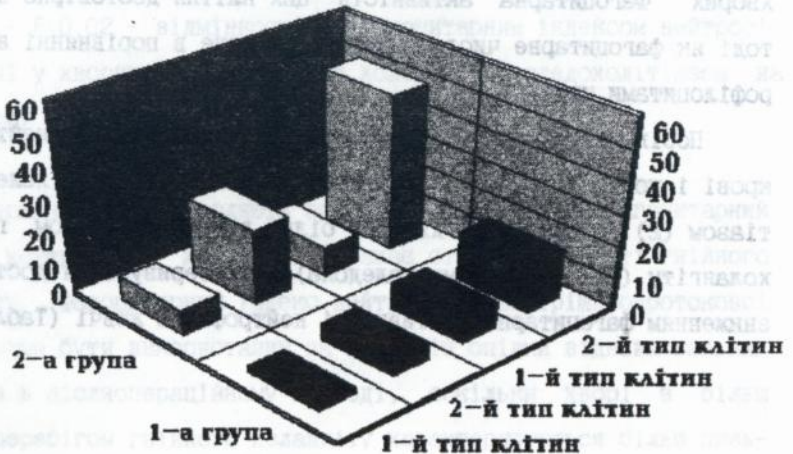
Вищевикладене дозволяє зробити висновок, що метаболічна і фагоцитарна активність нейтрофілів жовчі більш виражені як відносно активності клітин, так і щодо інтенсивності, а також ці показники швидше нормалізуються, ніж аналогічні показники крові.

**Порівняння кількості формазан-позитивних нейтрофілів крові із врахуванням типів розподілу у хворих на гнійний холангіт, n=11**



Мал.1

**Порівняльна характеристика формазан-позитивних нейтрофілів крові у хворих із стриктурами жовчного протока (1-а група) і холедохолітіазом (2-а група)**



Мал.2

Як було встановлено даними дослідженнями, на відміну від нейтрофілів крові, яким властиві три типи розподілу продукту реакції в НСТ-тесті, лейкоцити жовчі у хворих на гнійний холангіт завжди були I типу (дифузний), або III типу (без формагану).

Крім відмінностей по механізмі відновлення НСТ, нейтрофіли жовчі візуально відрізнялися від нейтрофілів крові за морфологічними ознаками. Результати наших спостережень свідчать, що нейтрофіли жовчі набагато слабше забарвлюються нейтральним червоним. Забарвлення цитоплазми продуктом реакції НСТ носить дифузно-крапковий характер, крапкові включення формагану рівномірно розміщені по всій клітині. Нейтрофілоцитам жовчі властива більш ніжна цитоплазма, без чітких контурів.

Встановлено, що поглинальна активність нейтрофілів крові у хворих на гнійний холангіт достовірно не відрізнялась від показників контрольної групи, однак спостерігалась тенденція до зниження як фагоцитарного індексу, так і фагоцитарного числа.

В той же час, фагоцитарні показники нейтрофілів жовчі мали достовірні відміни від фагоцитарних показників нейтрофілів крові хворих. Фагоцитарна активність цих клітин достовірно знижена, тоді як фагоцитарне число значно підвищене в порівнянні з нейтрофілоцитами крові.

Порівняльний аналіз фагоцитарних показників нейтрофілів крові і жовчі у хворих із стриктурами холедоха (1) і холедохолітазом (2) показав, що хворі з більш важким перебігом гнійного холангіту (із стриктурами холедоха) характеризуються достовірним зниженням фагоцитарної активності нейтрофілів жовчі (Табл.2).

Таблиця 2

Порівняльна характеристика показників фагоцитарної і метаболічної активності нейтрофілів жовчі у хворих із стриктурами холедоха (1-ша група) і з холедохолітазом (2-га група)

Показники імунітету		Сп НСТ, %	Ст НСТ, %	ІР, %	ФІ, %	ФЧ
Вихідні дані	1	46,3±6,6	56,9±6,5	18,1±5,3	30,5±6,2	1,94±0,37
	2	41,7±6,5	51,9±5,7	8,1±2,3	55,1±6,2**	2,41±0,18
1-2-а доба п/о	1	22,0±7,5	44,3±12,9	22,3±9,0	27,2±6,7	1,48±0,43
	2	31,5±17,1	50,0±12,3	10,7±6,8	49,6±10,8	2,15±0,53
5-7-а доба п/о	1	7,0±5,0	13,5±3,5	6,5±1,5	35,7±7,5	1,55±0,21
	2	17,5±8,5	18,7±7,5	2,5±2,5	70,3±5,8**	2,13±0,19

Примітка: 1 - 1-а група, 2 - 2-а група

\*\* -  $P < 0,02$  - відмінності за фагоцитарним індексом нейтрофілів жовчі у хворих із стриктурами холедоха і холедохолітазом в вихідному періоді

\*\* -  $P < 0,02$  - відмінності за фагоцитарним індексом нейтрофілів жовчі у хворих із стриктурами холедоха і холедохолітазом на 5-7-у добу після операції

Одержані дані дозволяють зробити висновок, що фагоцитарний індекс нейтрофілів жовчі відображає ступінь важкості гнійного холангіту. Фагоцитарний індекс нейтрофілів внутрішньопротокової жовчі може бути використаний як критерій оцінки відновлювальних процесів в післяопераційному періоді, оскільки хворі з більш тяжким перебігом гнійного холангіту характеризуються більш низькими рівнями цього показника.

Аналіз змін фагоцитарної і метаболічної активності нейтрофілів із жовчі загальної жовчної протоки вказує на поліпшення їх в процесі хірургічного лікування хворих (табл.3).

Таблиця 3

Динаміка показників фагоцитарної і метаболічної активності нейтрофілів жовчі у хворих на гнійний холангіт, n=28

Показники імунітету	Сп НСТ, %	Ст НСТ, %	ПР, %	ФІ, %	ФЧ
Вихідні дані	40,4 $\pm$ 4,7	52,5 $\pm$ 4,5	11,0 $\pm$ 2,5	44,2 $\pm$ 5,1	2,32 $\pm$ 0,21
1-2-а доба п/о	25,8 $\pm$ 7,8	46,9 $\pm$ 8,6	18,4 $\pm$ 6,4	37,4 $\pm$ 6,8	1,79 $\pm$ 0,17*
5-7-а доба п/о	12,3 $\pm$ 5,0***	16,6 $\pm$ 4,5***	4,5 $\pm$ 1,7*	55,4 $\pm$ 8,2	1,88 $\pm$ 0,17

Примітка:

\* -  $P < 0,05$  - відмінності за фагоцитарним числом нейтрофілів жовчі у хворих на гнійний холангіт на 1-2-у добу після операції в порівнянні з вихідними даними

\* -  $P < 0,05$  - відмінності між кількістю формазан-позитивних нейтрофілів жовчі за резервом при стимуляції в НСТ-тесті у хворих на гнійний холангіт на 5-7-у добу після операції в порівнянні з вихідними даними

\*\*\* -  $P < 0,001$  - відмінності між кількістю формазан-позитивних нейтрофілів жовчі в спонтанному НСТ-тесті у хворих на гнійний холангіт на 5-7-у добу після операції в порівнянні з вихідними даними

\*\*\* -  $P < 0,001$  - відмінності між кількістю формазан-позитивних нейтрофілів жовчі в стимульованому НСТ-тесті у хворих на гнійний холангіт на 5-7-у добу після операції в порівнянні з вихідними даними

Дослідження морфофункціональних властивостей нейтрофілів крові хворих на гнійний холангіт дозволило встановити, що активовані клітини відрізняються від неактивних більшим периметром і площею.

Тканинні нейтрофілоцити печінки у 67 відсотків хворих на гнійний холангіт знаходяться в активованому стані в результаті запального процесу. Активовані нейтрофіли печінки виявляються збільшенням площі, периметру і густини цих клітин. При гнійному холангіті активовані нейтрофілоцити становлять від 30 до 56 % /в середньому -  $(47,0 \pm 8,5) \%$  / нейтрофілів, які знаходяться в печінці.

Таким чином, проведені наукові дослідження дозволяють обґрунтувати положення про наявність відносно автономної системи місцевого імунітету жовчовивідних шляхів, яка найбільш суттєво змінюється у хворих на гнійний холангіт.

На основі одержаних наукових даних нами був розроблений "Спосіб діагностики гнійного холангіту" (патент N 4871792/14 від 29.08.91), який включає мікроскопічне дослідження клітинного складу жовчі. Спосіб діагностики полягає в тому, що із жовчі, одержаної інтраопераційно, виділяють нейтрофіли, проводять їх реакцію з нітросинім тетразолієм, визначають кількість форман-позитивних клітин. При їх наявності в кількості 2 % та більше діагностують гнійний холангіт. Застосування розробленого нами способу діагностики гнійного холангіту підвищує достовірність діагностики і скорочує тривалість дослідження.

#### **ВИСНОВКИ**

1. Науково обґрунтована наявність відносно автономної системи імунітету жовчних шляхів.

2. Найбільш суттєві зміни факторів захисту у хворих на гнійний холангіт відмічаються у відносно автономній системі імунітету жовчних шляхів.

3. У внутрішньопротоковій жовчі при гнійному холангіті достовірно збільшується концентрація секреторного і сироваткового імуноглобулінів А, імуноглобуліна G і С3-компоненту комплементу. Динаміка змін вмісту в жовчі цих факторів може бути використана для контролю ефективності перебігу післяопераційного періоду.

4. У хворих на гнійний холангіт у 55 % випадків у жовчі, одержаній інтраопераційно з загальної жовчної протоки, виявляються антитіла до E.coli в титрах від 1:80 до 1:640. В той же час в сироватках крові хворих антитіла до E.coli не виявляються. В жовчі всіх обстежених хворих визначаються імунні комплекси в кількості  $(0,316 \pm 0,085)$  умов.од., тоді як в сироватках крові - в кількості  $(0,928 \pm 0,242)$  умов.од.

5. Лімфоїдні клітини в значній кількості в жовчі загальної жовчної протоки виявляються у 43 % хворих на гнійний холангіт, переважно у осіб, які раніше перенесли вірусний гепатит. Кількість виявлених лімфоцитів складає від 4 до 81 % клітин жовчі. Е-РУК складають від 2 до 68 % лімфоїдних клітин жовчі.

6. У хворих на гнійний холангіт в жовчі загальної жовчної протоки закономірно виявляються поліморфноядерні нейтрофілоцити, які дифузно відновлюють нітросиній тетразолій. Фагоцитарна активність цих клітин, які знаходяться в жовчі, достовірно знижена в порівнянні з такою у нейтрофілоцитів крові, а фагоцитарне число значно збільшене.

7. Тканинні нейтрофілоцити печінки у 67 % хворих на гнійний холангіт знаходяться в активованому стані, що проявляється

збільшенням площі, периметру і густини цих клітин. При гнійному холангіті активовані нейтрофілоцити складають від 30 до 56 % / в середньому -  $(47 \pm 8,5) \%$  / нейтрофілів, які знаходяться в печінці.

8. Застосування розробленого нами способу діагностики гнійного холангіту по кількості формазан-позитивних нейтрофілоцитів (А.с. N 4871792/14 від 8.10.90 р.) дозволяє підвищити її ефективність.

#### **ВИНАХОДИ**

Спосіб діагностики гнійного холангіту. Рішення про видачу патенту ВНДІДПЕ від 29.08.91 р. за заявкою N 4871792/14 від 8.10.90 р.

#### **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

Розроблений спосіб одержання нейтрофілоцитів з жовчі пропонується для застосування в клінічних та наукових лабораторіях.

#### **ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Принципы лечения гнойного холангита // Актуальные вопросы клинической хирургии. - Львов, 1989. - С.75. Соавт. С.А.Шалимов, М.Е.Ничитайло, А.В.Скумс, И.С.Величенко, И.М.Тодуров.

2. Показатели местного иммунитета в оценке эффективности лечения и прогноза у больных гнойным холангитом, оперированных на желчных протоках // Республиканский сборник по рацпредложениям и изобретениям. - Киев, 1990. - Ч. II. - С.15. Соавт. М.Е.Ничитайло, А.В.Скумс, И.М.Тодуров.

3. Значение некоторых показателей системного и местного иммунитета у больных механической желтухой и гнойным холангитом //

Врачебное дело. - 1990. - №12. - С.54-58. Соавт. С.А.Шалимов, В.П.Чернышов, М.Е.Ничитайло, А.В.Скумс.

4. Профилактика инфекционных осложнений у больных, оперированных по поводу доброкачественных обструкций желчных путей // Новое в диагностике и лечении патологии органов брюшной полости. Актуальные вопросы хирургии. - Киев, 1990. - С.57-59. Соавт. М.Е.Ничитайло, И.С.Беличенко, С.М.Титаренко, Гулам Наби Лоне.

5. Наружно-внутреннее дренирование желчных протоков при механической желтухе и гнойном холангите // Наука и производство - здравоохранению. - Киев, 1990. - Ч. II. - С.15-16. Соавт. М.Е.Ничитайло, А.В.Скумс.

6. Диагностика и принципы лечения обструктивного гнойного холангита // Клиническая хирургия. - 1991. - №9. - С.1-4. Соавт. С.А.Шалимов, М.Е.Ничитайло, А.В.Скумс, В.В.Дьяченко, П.В.Огородник, И.М.Тодуров, С.М.Титаренко.

7. Характеристика общего и местного иммунитета при интрахоledoхиальной терапии больных гнойным холангитом // Актуальные проблемы клинической хирургии. - М., 1991. - С.84-86. Соавт. И.М.Тодуров.

8. Способ лечения больных гнойным холангитом // Ращпредложение N 8/2. Соавт. И.М.Тодуров.

9. Хирургические аспекты лечения больных гнойным холангитом // Материалы I Всесоюзной конференции по хирургии печени и желчных путей. - Ташкент, 1991. - С.180-181. Соавт. С.А.Шалимов, М.Е.Ничитайло, В.В.Хижняк, И.С.Беличенко, А.В.Скумс, И.М.Тодуров.

10. Морфофункциональные показатели нейтрофилов у больных гнойным холангитом // Клиническая хирургия. - 1995. - №3. - С.3-4. Соавт. В.Ф.Саенко, Е.Б.Медведский.

Стасенко А.А. "Гуморальные и клеточные факторы регионарного и системного иммунитета у больных гнойным холангитом".

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.15 - Иммунология и аллергология, Национальный медицинский университет, Киев, 1996.

Защищается 11 научных работ, которые содержат данные изучения гуморальных и клеточных факторов регионарного и системного иммунитета у больных гнойным холангитом. Научно обосновано наличие относительно автономной системы местного иммунитета желчевыводящих путей. Установлено, что наиболее существенные изменения факторов защиты у больных гнойным холангитом отмечаются в системе местного иммунитета желчных протоков. Содержание антител и С3-компонента комплемента во внутрипротоковой желчи у больных гнойным холангитом нормализуется в ранний послеоперационный период. Обнаружено, что у больных гнойным холангитом в желчи общего желчного протока закономерно выявляются полиморфноядерные нейтрофилциты, диффузно восстанавливающие нитросиний тетразолий. Научно обосновано применение НСТ-теста при диагностике гнойного холангита. На основе полученных научных данных разработан способ диагностики гнойного холангита, который позволяет объективизировать и повысить точность диагностики, а также сократить время, необходимое для получения результата.

Stasenko A.A. " Humoral and cellular factors of local and systemic immunity in patients with purulent cholangitis." Dissertation for the degree of candidate of biological sciences in speciality 14.03.15 - Immunology and Allergology, as a manuscript. National Medical University, Kyiv, 1996.

The author's results of investigation of humoral and cellular factors of local and systemic immunity in patients with purulent cholangitis are published in 11 papers. Availability of relatively autonomous system of local immunity of biliary tract is scientifically substantiated. The significant changes of factors of defence are due to local immune system of biliary tract. The content of antibody and C3-component complement in intraductal bile are normalised during the early post-operative period. It is shown, that polymorphonuclear neutrophils reducing diffusely the nitroblue tetrazolium are detected in patients with purulent cholangitis. The employment of NBT-test is substantiated scientifically at the diagnosis of purulent cholangitis. The method of diagnosis of purulent cholangitis was worked out on the basis of quite scientific results.

Ключові слова: гнійний холангіт, жовчні протоки, регіональний імунітет



Зам. № 6. Тираж 100 екз. Папір "DATA -COPY"  
Формат 60x84/16. Підписано до друку 06.11.96.  
Рекламно-поліграфічний центр видавництва  
Українсько-фінського інституту менеджменту і бізнесу.  
Київ 252115, вул. Депутатська, 15/17

437382

AB 36.229