

УДК 616.366-002+616.12-008.331.1]-08-053.81

К.М. Компанієць

ІМУНОЛОГІЧНІ ПОРУШЕННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ НЕКАЛЬКУЛЬОЗНИЙ ХОЛЕЦИСТИТ НА ТЛІ ГЕЛІКОБАКТЕРІОЗУ ЗАЛЕЖНО ВІД ДИСБІОЗУ КИШЕЧНИКУ

Харківський національний медичний університет

Резюме. У статті висвітлені результати дослідження імунологічних порушень у хворих на хронічний некалькульозний холецистит на тлі гелікобактеріозу залежно від дисбіозу кишечника. При цьому встановлено, що зазначена патологія супроводжується виникненням Т-лімфопенії, дисбалансом основних субпопуляцій Т-клітин, підвищенням у сироватці крові концентрації

IL-1 β , IL-2, TNF α на тлі відносної недостатності IL-4 і пригнічення фагоцитарної активності моноцитів.

Ключові слова: дисбіоз кишечника, імунологічні порушення, гелікобактеріоз, хронічний некалькульозний холецистит.

Вступ. При гепатобілярній патології [2, 3, 6, 7, 11, 13] *Helicobacter pylori* (НР) виявляється в жовчі і слизовій оболонці жовчного міхура (ЖМ) [1, 5]. Зазвичай інфекція НР має хронічний перебіг на тлі порушень реактивності як місцевих захисних механізмів слизових оболонок травного каналу, так і системного імунітету [4, 9, 10], які є ключовими у формуванні гастродуоденальної патології, оскільки патогенні штами НР здатні реалізувати свій цитотоксичний потенціал тільки за наявності вторинних імунодефіцитних станів [11, 12].

Мета дослідження. Дослідити імунологічні порушення у хворих на хронічний некалькульозний холецистит на тлі гелікобактеріозу залежно від дисбіозу кишечника.

Матеріал і методи. Хворим на хронічний некалькульозний холецистит (ХНХ) на тлі гелікобактеріозу проведено імунологічне дослідження з визначенням показників клітинної та гуморальної ланки імунітету, цитокінового профілю крові (ЦПК). Стан клітинної ланки імунітету (кількість загальної популяції Т- (CD3+) та В-лімфоцитів (CD22+), субпопуляцій Т-хелперів/індукторів (CD4+), Т-супресорів/кілерів (CD8+) у периферичній крові) визначався в цитотоксичному тесті із застосуванням комерційних моноклональних антитіл (МКАТ) класів CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ виробництва НВЦ «МедБіоСпектр» (РФ-Москва). Вираховувався імунорегуляторний індекс CD4/CD8, який оцінювали як співвідношення Т-лімфоцитів із хелперною та супресорною активністю (Th/Ts). Інтерпретація виявлених зсувів здійснювалась за допомогою методу «імунологічного компасу» [8]. Функціональна активність Т-лімфоцитів вивчалася за допомогою реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) при постановці її мікрометодом. Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦК) у сироватці крові досліджували методом преципітації в розчині поліетиленгліколю (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 D. Молекулярний склад ЦК з визначенням велико- (19>S), середньо- (11S-19S) та дрібномолекулярних (<11S) фракцій досліджували шляхом дифе-

ренційованої преципітації у 2,0 %, 3,5 % та 6,0 % розчинах ПЕГ. Дослідження фагоцитарної активності моноцитів (ФАМ) здійснювали чашечковим методом (Фролов В.М. і соавт., 1990): як тест-об'єкт використовувалася жива добова культура *Staphylococcus aureus* (штам 505). Підраховували такі показники ФАМ: фагоцитарне число (ФЧ), фагоцитарний індекс (ФІ), індекс атракції (ІА), індекс перетравлення (ІП).

Рівень цитокінів (ЦК) (TNF- α , IL-1 β , IL-2 та IL-4) у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) на аналізаторі PR 21+00 фірми Sanofi Diagnostics Pasteur (Франція) з використанням сертифікованих в Україні тест-систем виробництва ТОВ «Протеїновий контур» (РФ-СПб): ProCon IL-1 β , ProCon IL-2, ProCon TNF α , ProCon IL-4 методом ІФА за інструкцією фірми-виробника.

За допомогою бактеріологічного методу, який проводився за допомогою посіву на поживне середовище, вивчали кількісний та видовий склад мікробіоценозу кишечника згідно з методичними рекомендаціями з мікробіологічної діагностики дисбіозу.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою багатофакторного дисперсійного аналізу з використанням пакетів ліцензійних програм Microsoft Office 97, Microsoft Excel Standard 6.1/prof та Statistica.

Результати дослідження та їх обговорення. Під нашим наглядом перебувало 104 хворих, серед яких у 28 (27,1 %) відмічався нормобіоценоз кишечника, у 25 (24,5 %) – дисбіоз I ступеня, у 51 (48,4 %) – дисбіоз II ступеня. Імунологічне обстеження дозволило встановити наявність Т-лімфопенії, зниження кількості циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+) та дисбаланс субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, про що свідчило зниження імунорегуляторного індексу CD4/CD8. Пригнічення функціонального стану Т-лімфоцитів супроводжувалося зменшенням показника РБТЛ із ФГА. При нормобіоценозі кишечника кількість CD3+ складала $1,09 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$; у пацієнтів із дисбіозом I ступеня – $0,97 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$; у пацієнтів із дисбіозом II ступе-

ня – $0,72 \pm 0,02 \times 10^9$ /л (при нормі $1,42 \pm 0,05 \times 10^9$ /л; $p < 0,05$); CD4+ – $0,69 \pm 0,06 \times 10^9$ /л; $0,52 \pm 0,05 \times 10^9$ /л; $0,41 \pm 0,03 \times 10^9$ /л відповідно (при нормі $0,85 \pm 0,03 \times 10^9$ /л; $p < 0,01$); CD8+ – $0,39 \pm 0,01 \times 10^9$ /л; $0,36 \pm 0,01 \times 10^9$ /л; $0,33 \pm 0,01 \times 10^9$ /л відповідно (норма $0,42 \pm 0,01$ г/л; $p < 0,01$). Імунорегуляторний індекс CD4/CD8 у більшості обстежених мав чітку тенденцію до зниження, складаючи в середньому $1,76 \pm 0,03$; $1,44 \pm 0,04$; $1,24 \pm 0,03$ відповідно (при нормі $2,05 \pm 0,06$; $p < 0,01$). Кількість В-клітин (CD22+) була в нормі або помірно знижена. Показник РБТЛ при нормобіоценозі становив $55,1 \pm 1,7$ %, дисбіозі I ступеня – $46,1 \pm 1,9$ %; дисбіозі II ступеня – $37,8 \pm 2,0$ % (норма $61,5 \pm 1,8$ % ($p < 0,05$)).

У той же час встановлено підвищення рівня загальних ЦК у крові (переважно за рахунок найбільш патогенних середньо- (11S–19S) і дрібно-молекулярних фракцій (<11S): із збереженим станом мікробіоти – до $2,98 \pm 0,09$ г/л; при дисбіозі I ступеня – до $3,58 \pm 0,07$ г/л; дисбіозі II ступеня – до $4,52 \pm 1,1$ г/л (при нормі $1,88 \pm 0,05$ г/л; $p < 0,01$). При цьому сума 11S–19S та <11S ЦК у пацієнтів із нормобіоценозом кишечника дорівнювала $1,88 \pm 0,09$ г/л в абсолютному значенні; з дисбіозом I ступеня складала у середньому $2,50 \pm 0,1$ г/л; дисбіозом II ступеня – $3,31 \pm 0,2$ г/л (норма $0,99 \pm 0,08$ г/л; $p < 0,01$), що свідчило про участь ЦК у патогенезі ХНХ на тлі гелікобактеріозу.

Аналіз змін показників ФАМ залежно від вираженості дисбіозу кишечника показав, що у пацієнтів із збереженою мікробіотою при тривалому перебігу ХНХ відмічалася зниження ФІ в середньому в 1,2 рази ($23,8 \pm 0,7$ % при нормі $28,6 \pm 0,8$ %; $p < 0,05$), ФЧ – в 1,25 рази ($3,2 \pm 0,1$ при нормі $4,0 \pm 0,15$; $p < 0,05$). У пацієнтів із нормобіоценозом кишечника ІА не відрізнявся від норми ($10,7 \pm 0,8$ %; $p > 0,05$), але мав тенденцію до зниження; ІІ був менше за норму в 1,34 рази ($19,8 \pm 0,8$ % при нормі $26,5 \pm 0,9$ %; $p < 0,05$). Більш виражені порушення відмічалися в осіб із дисбіотичними ознаками: ФІ при дисбіозі I ступеня дорівнював $16,7 \pm 0,8$ %, дисбіозі II ступеня – $12,6 \pm 0,7$ %, тобто зменшувався в 1,71 та 2,27 рази відповідно ($p < 0,01$). Показник ФЧ у період загострення ХНХ у хворих із проявами дисбіозу кишечника незалежно від ступеня знижувався, складаючи при дисбіозі I ступеня в середньому $2,7 \pm 0,3$ та при дисбіозі II ступеня – $2,0 \pm 0,2$ ($p < 0,01$). Рівень ІА в обстежених пацієнтів із дисбіозом I ступеня становив $17,3 \pm 0,6$ % (норма $12,0 \pm 0,6$ %; $p < 0,01$), дисбіозом II ступеня – $8,5 \pm 0,7$ % ($p < 0,01$). Показник ІІ при дисбіозі I ступеня дорівнював $14,7 \pm 0,6$ % (норма $26,5 \pm 0,9$ %; $p < 0,05$), дисбіозі II ступеня – $12,5 \pm 0,8$ % ($p < 0,01$). Таким чином, у пацієнтів із ХНХ на тлі гелікобактеріозу відмічалася зниження бактерицидності до поглинутих мікробних тіл.

Отримані дані свідчать, що в обстежених хворих відмічалася тенденція до зростання прозапальних ЦК (IL-1 β , TNF α , IL-2). Так, у пацієнтів

із дисбіозом II ступеня рівень TNF α складав $111,7 \pm 2,2$ пг/мл (норма – $39,6 \pm 2,2$ пг/мл; $p < 0,05$); IL-1 β – $30,7 \pm 1,1$ пг/мл (норма – $18,8 \pm 1,2$ пг/мл; $p < 0,05$); IL-2 – $26,9 \pm 1,9$ пг/мл (норма – $20,8 \pm 2,1$ пг/мл; $p < 0,05$). У пацієнтів із дисбіозом I ступеня вміст TNF α та IL-1 β зростав повільніше і становив $59,4 \pm 2,0$ пг/мл та $27,3 \pm 1,2$ пг/мл відповідно ($p < 0,05$); IL-2 – $30,1 \pm 2,2$ пг/мл ($p > 0,05$). Водночас максимальний вміст протизапального ЦК IL-4 був у пацієнтів з дисбіозом II ступеня ($49,3 \pm 1,4$ пг/мл при нормі $47,2 \pm 1,4$ пг/мл; $p > 0,05$), а мінімальний – у пацієнтів із дисбіозом I ступеня ($38,6 \pm 1,1$ пг/мл; $p < 0,05$); при збереженні мікрофлори кишечника вміст IL-4 залишався в межах референтної норми ($46,8 \pm 1,5$ пг/мл; $p > 0,05$).

Отже, цитокіновий профіль крові в обстежених пацієнтів характеризувався більш високим вмістом медіаторів запалення (TNF α , IL-1 β , IL-2) на тлі відносної недостатності протизапального ЦК (IL-4). Тобто, низька імунорегуляторна здібність протизапального ЦК IL-4 сприяла розширенню спектра мікробного обмінення слизової оболонки кишечника.

Висновки

1. У хворих на хронічний некалькульозний холецистит на тлі гелікобактеріозу спостерігається наявність хронічного запального процесу, що супроводжується порушенням імунних показників у вигляді Т-лімфопенії, дисбалансу основних субпопуляцій Т-клітин із зменшенням імунорегуляторного індексу CD4/CD8 та показника реакції бластної трансформації лімфоцитів, а також суттєвим підвищенням у сироватці крові концентрації прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-2, TNF α) та відносною недостатністю протизапального цитокіну IL-4.

2. Однією з причин збільшення ступеня дисбіозу кишечника у хворих на хронічний некалькульозний холецистит на тлі гелікобактеріозу є незавершеність процесів фагоцитозу, що проявляється пригніченням фагоцитарної активності моноцитів із зниженням фагоцитарних показників (фагоцитарного числа, фагоцитарного індексу, індексу атракції та особливо індексу перетравлення).

Перспективи подальших досліджень. У подальшому доцільним є вивчення стану перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи крові у хворих на хронічний некалькульозний холецистит на тлі гелікобактеріозу.

Література

1. Губергриц Н.Б. Клинико-патогенетические особенности и лечение гастродуоденальной патологии, ассоциированной с различными штаммами *Helicobacter pylori* / Н.Б. Губергриц, О.А. Прилуцкая // Сучас. гастроентерол. – 2005. – №1. – С. 20-28.
2. Москаленко В.Ф. Заболевания гепатобилиарной системы (распространенность, нерешенные проблемы) / В.Ф. Москаленко, Н.В. Харченко, М.В. Голубчиков // 36. наук. праць співр. КМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2000. – Вип. 9, кн. 4. – С. 5-10.

3. Попова Ю.С. Болезни печени и желчного пузыря. Диагностика, лечение, профилактика / Ю.С. Попова. – СПб.: Крилов, 2008. – 192 с.
4. Типовые реакции иммунной системы при различных патологических процессах / А.М. Земсков, М.А. Земсков, В.И. Золодедов [и др.] // Ж. теорет. и практ. мед. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 6-12.
5. Фадеенко Г.Д. Современные представления о Helicobacter pylori-негативной язвенной болезни / Г.Д. Фадеенко // Сучас. гастроентерол. – 2003. – № 2. – С. 4-6.
6. Філіппов Ю.О. Захворюваність основними хворобами органів травлення в Україні: аналітичний огляд офіційних даних Центру статистики МОЗ України / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скирда, Л.М. Петречук // Гастроентерологія: міжвід. збірник. – Дніпропетровськ, 2007. – Вип. 38. – С. 3-15.
7. Фирсов Л.Ф. Холецистит - симптомы и лечение [Електроний ресурс] / Л.Ф.Фирсов // Лікар. – 2009. – Режим доступу до журналу: [www.likar-info.ua / articles/2009/01firsov.htm](http://www.likar-info.ua/articles/2009/01firsov.htm).
8. Фролов В.М. Использование «иммунологического компаса» для диагностики иммунных нарушений / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин, С.Е.Казакова // Клини. лаб. диагност. – 1994. – № 1. – С. 10-13.
9. Циммерман Я. С. Язвенная болезнь и иммунная система организма / Я.С. Циммерман, Е.Н. Михалева // Клини. мед. – 2000. – № 7. – С. 15-21.
10. Щербиніна М.Б. Особливості поширеності та захворюваності населення України на холецистит і холангіт / М.Б. Щербиніна, М.І. Бабець // Сім. мед. – 2008. – № 1. – С. 126-129.
11. Cholecystitis, biliary tract surgery an pancreatitis: [Ed. overview] // Obstet. Gynecol. – 2004. – Vol. 104. – P. 17-24.
12. Marshall B. Commentary: Helicobacter as the «environmental factor» in Susser and Stein's cohort theory of peptic ulcer disease / B. Marshall // International Journal of Epidemiology. – 2002. – Vol. 31, № 1. – P. 21-22.
13. Schirmer B.D. Cholelithiasis and cholecystitis / B.D. Schirmer, K.L. Winters, R.F. Edlich // Y. Long Term Eff. Med. implants. – 2005. – Vol. 15 (3). – P. 329-338.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ НЕКАЛЬКУЛЕЗНЫМ ХОЛЕЦИСТИТОМ НА ФОНЕ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА

К.Н. Компаниец

Резюме. В статье приводятся результаты исследования иммунологических нарушений у больных хроническим некалькулёзным холециститом на фоне хеликобактериоза в зависимости от дисбиоза кишечника. При этом установлено, что указанная патология сопровождается возникновением Т-лимфопении, дисбалансом основных субпопуляций Т-клеток, повышением в сыворотке крови концентрации IL-1 β , IL-2, TNF α на фоне относительной недостаточности IL-4 и угнетения фагоцитарной активности моноцитов.

Ключевые слова: дисбиоз кишечника, иммунологические нарушения, хеликобактериоз, хронический некалькулёзный холецистит.

IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN PATIENTS WITH CHRONIC NON-CALCULOUS CHOLECYSTITIS AGAINST THE BACKGROUND OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION DEPENDING ON THE INTESTINAL DYSBIOSIS

К.Н. Companiets

Abstract. The article highlights the results of a study of immunological disorders in patients with chronic non-calculous cholecystitis against the background of helicobacter pylori depending on the intestinal dysbiosis. It was established that the pathology is accompanied by T lymphopenia, imbalance of major subpopulations of T cells, increased serum concentrations of IL-1 β , IL-2, TNF α against the backdrop of relative lack of IL-4 and inhibition of phagocytic activity of monocytes.

Key words: intestinal dysbiosis, immunological disorders, Helicobacter pylori infection, chronic non-calculous cholecystitis.

National Medical University (Kharkiv)

Рецензент – проф. О.І. Федів

Buk. Med. Herald. – 2015. – Vol. 19, № 4 (76). – P. 81-83

Надійшла до редакції 13.11.2015 року