

АНОТАЦІЯ

Джума К.А. Клініко-імунологічні та морфофункціональні зміни при хірургічному лікуванні дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії (клініко-експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Національний медичний університет імені О.О.Богомольця. Київ, 2019.

Зміст анотації

Допечінкова форма портальної гіпертензії є однією з принципово важливих хірургічних проблем в дитячому віці, однак дані щодо структурних та метаболічних основ імунологічних порушень, які призводять до розвитку імунологічних ускладнень практично відсутні. Не вивченими залишаються і самі зміни імунного статусу у дітей при цій патології та після її хірургічної корекції, хоча як відомо операції портосистемного шунтування призводить до перебудови гемодинаміки організму в цілому, що безпосередньо впливає на функцію центральних та периферичних органів імунної системи. В літературі є поодинокі публікації, які описують порушення з боку імунної системи у дітей при ДфПГ, однак немає фундаментальних комплексних досліджень, що стосуються цієї важливої проблеми.

Високий відсоток дітей хворих на ДфПГ, виникнення життєво погрозливих ускладнень, складність та недостатня ефективність існуючих методів лікування цієї патології дає вагомі підстави для проведення подальших клінічних та експериментальних досліджень. Вищевказане визначає актуальність нашого дослідження.

У дисертаційній роботі наведено розв'язання актуального науково-практичного завдання – підвищення ефективності хірургічного лікування дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії на основі оцінки клініко-імунологічних та морфофункціональних змін до та після операцій портосистемного шунтування.

Метою роботи було покращення результатів хірургічного лікування дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії на основі оцінки клініко-імунологічних та морфофункціональних змін до та після операцій портосистемного шунтування.

У процесі роботи передбачалось розв'язати такі завдання: встановити характер і ступінь порушень з боку імунної системи у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії; вивчити вплив портосистемного шунтування на імунологічний статус в післяопераційному періоді у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії; визначити найбільш сприятливий тип портосистемного шунтування у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії з імунологічної точки зору; вивчити морфофункціональні зміни в тканинах селезінки та мезентеріального лімфатичного вузла в динаміці формування допечінкової форми портальної гіпертензії що характеризують імунні розлади; розробити та апробувати схеми фармакологічної корекції імунологічних змін при допечінковій формі портальної гіпертензії; оцінити результати запропонованої схеми фармакокорекції при допечінковій формі портальної гіпертензії.

Клінічна частина дисертаційної роботи є ретроспективним, моноцентричним дослідженням пацієнтів із допечінковою формою портальної гіпертензії.

Критерії включення у дослідження: наявність клініко-інструментальних ознак допечінкової форми портальної гіпертензії, вік від 0-18 років, добровільна згода батьків та пацієнта.

Критерії не включення у дослідження: наявність печінкової недостатності, декомпенсація портальної гіпертензії на момент обстеження, спленектомія в анамнезі, наявність супутніх захворювань, що здатні впливати на імунний статус, таких як вроджені та набуті імунодефіцити, аутоімунні захворювання, цукровий діабет, прийом імуносупресивної терапії.

Таким чином, згідно вищенаведених критеріїв, у дослідження було включено 100 пацієнтів із допечінковою формою портальної гіпертензії, які

проходили лікування в клініці кафедри дитячої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (на базі хірургічних відділень НДСЛ «ОХМАТДИТ» м. Київ) в період з 2009 по 2016 рр. Досліджувана популяція була розподілена на дві основні групи: пацієнти після спленоренального шунтування - (n=55) та пацієнти після мезентерикокавального шунтування - (n=45), а також на 6 вікових підгруп. Серед них 51 (51%) хлопчик і 49 (49%) дівчаток. При вивченні анамнезу дітей з ДФПГ встановлено: у 38 (38%) хворих в періоді новонародженості виконувалась катетеризація пупкової вени, захворювання пупка (пупковий сепсис, омфаліт) були у 9 (9%) дітей, сепсис в період новонародженості, НЕК був у 1 (1%) хворого, 6 (6%) дітей мали в анамнезі патологічні пологи та недоношеність різного ступеня важкості. У 46 (46%) дітей неонатальний анамнез був неускладнений. Імунний статус вивчався двічі, при первинному поступленні пацієнта і через 6 місяців після оперативного лікування.

Головними досліджуваними змінними були: частота і протяжність інфекційних захворювань протягом року; показники імунограм: Ig A, M, G; CD3 +, CD4 +, CD8 +, CD16 +, CD22 +, фагоцитарне число, фагоцитарний індекс, спонтанний та індукований НСТ тест, концентрація циркулюючих імунних комплексів, інтерлейкін 1, інтерлейкін 6.

Експериментальна частина дисертаційної роботи являла собою проспективне контрольоване дослідження, що включало розробку та відтворення моделі допечінкової форми портальної гіпертензії, визначення змін ліпідного метаболізму в тканинах селезінки та плазмі крові, оцінка патоморфологічних та ультраструктурних змін в тканинах селезінки, мезентеріального лімфатичного вузла 50 щурів через 1 та 3 місяці після моделювання допечінкової форми портальної гіпертензії, вивчення серологічних показників в динаміці, а також вивчення морфологічних змін селезінки та мезентеріального лімфатичного вузла після лікування імуномодуляторами вобензимом та поліоксідонієм. Експериментальне дослідження проводилось на базі Інституту проблем патології НМУ імені

О.О.Богомольця. Утримання, догляд за тваринами, маркування і всі маніпуляції проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Головними досліджуваними змінними були: частотата і протяжність інфекційних захворювань протягом року; показники імунограм: Ig A, M, G; CD3 +, CD4 +, CD8 +, CD16 +, CD22 +, фагоцитарне число, фагоцитарний індекс, спонтанний та індукований НСТ тест, концентрація циркулюючих імунних комплексів, інтерлейкін 1, інтерлейкін 6; Жирнокислотний склад в тканинах селезінки та лімфатичного вузла. А також, ультраструктурні зміни в тканинах білої пульпи селезінки та мезентеріального лімфатичного вузла.

Для оцінки достовірності між досліджуваними групами використовувався Т-критерій Ст'юдента у випадку нормального розподілу. У випадку відмінності закону розподілу від нормального використано непараметричний Крускала-Уолліса, який є аналогом однофакторного дисперсійного аналізу. Статистична обробка даних проводилась у пакеті статистичного аналізу IBM SPSS Statistics 22.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у пацієнтів із допечінковою формою портальної гіпертензії ($n = 67$) мала місце лімфопенія (відносна та абсолютна) на тлі гіперспленізму та знижена абсолютна ($1,18 \pm 0,6$) $10^9/\text{л}$ та відсоткова кількість Т-клітин ($49,7 \pm 4,7$)% у порівнянні із стандартними віковими показниками. Після обох типів операцій абсолютний рівень Т-лімфоцитів збільшується до ($1,7 \pm 0,8$) $10^9/\text{л}$ після мезентерикокавального шунтування та ($1,5 \pm 0,4$) $10^9/\text{л}$ після спленоренального шунтування, лімфопенія зберігається.

До операції рівень CD16+клітини був вірогідно підвищений ($22,58 \pm 3,34$)% порівняно із здоровими дітьми (12 ± 2)% $p < 0,05$. Після операцій мезентерикокавального та сплено(супра)реального шунтування знизилась активація цих клітин і їх рівень статистично не значимо зменшився $p > 0,05$.

Фагоцитарне число та індекс у хворих до операцій був у межах норми. Після двох типів операцій зміни цих показників не відбулося. А спонтанний тест відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) до операції був підвищений ($55,05\% \pm 5,03$), при нормі до 10%. Після обох типів операції НСТ-тест зберігається високим на тлі збереження антигенного навантаження на фагоцитарну систему, а після спленоренального шунтування навіть підвищується. Аналіз вмісту сироваткового Ig M у хворих на портальну гіпертензію до та після обох типів операції шунтування показує статистично достовірно вищий рівень у порівнянні із стандартними віковими показниками ($p < 0,05$). Зниження сироваткового Ig M було відмічено тільки у трьох хворих після сплено(супра)ренального шунтування.

При ультраструктурному дослідженні тканин мезентеріальних лімфатичних вузлів та селезінки щурів після проведеного місячного курсу комбінованого лікування імуномодуляторами вобензимом і поліоксідонієм у порівнянні із нелікованими щурами в лімфоїдних фолікулах відмічається активація процесів фагоцитозу, особливо ретикулоендотеліальними клітинами, що укривають лімфоїдні фолікули, про що свідчить збільшення кількості та розмірів лізосом, добре розвинена зерниста ендоплазматична сітка, елементи комплексу Гольджі, велика кількість рибосом та полісом. В гермінативних центрах лімфоїдних фолікулів активуються процеси проліферації. Спостерігається велика кількість лімфобластів, які містять центріолі, мітохондрії переважно класичної кулястої форми, містять ламінарні кристи без ознак деструкції, що свідчить про відновлення процесів енергетичного обміну. В крайових синусах відсутні бактеріальні клітини, активуються процеси фагоциту в берегових макрофагах та інтердигітантних клітинах у невеликій кількості містяться перетравлені рештки бактерій. Ультраструктура фагоцитів практично не відрізняється від контрольної групи тварин. Всі органели добре розвинені, без ознак деструкції. В міжклітинному просторі відсутній клітинний детрит та вогнища периваскулярного запалення і розростання колегану. Збережені клітинні мембрани.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше вивчений характер і ступінь порушень з боку імунної системи у дітей хворих на допечінкову форму портальної гіпертензії. Розроблено і запроваджено комплекс діагностичних клініко-лабораторних заходів для оцінки імунного статусу дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії. Вперше вивчений вплив портосистемного шунтування на імунологічний статус у ранньому та віддаленому післяопераційному періоді та визначений найбільш сприятливий тип портосистемного шунтування з урахуванням імунологічного статусу.

Вперше, в експерименті на щурах створена оригінальна модель допечінкової форми портальної гіпертензії. Проведено комплексне морфофункціональне дослідження структурних змін органів периферичної імунної системи, селезінки та мезентеріального лімфатичного вузла, в динаміці формування допечінкової форми портальної гіпертензії. Вперше в експерименті були уточнені імунологічні аспекти патогенезу допечінкової форми портальної гіпертензії, розроблені та апробовані схеми фармакологічної корекції імунологічних змін у експериментальних щурів з допечінковою формою портальної гіпертензії.

Практичне значення одержаних результатів

На підставі аналізу результатів дослідження, розроблено мультидисциплінарний підхід медичного супроводу дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії для вчасного виявлення і корекції імунологічних порушень та розроблені практичні рекомендації по веденню таких пацієнтів. Запропоновано алгоритм імунологічного обстеження пацієнтів з допечінковою формою портальної гіпертензії та запроваджено індивідуалізований підхід оцінки імунологічних показників.

Визначено найбільш доцільний з імунологічної точки зору спосіб портосистемного шунтування, при якому частота післяопераційних імунологічних порушень статистично достовірно менша ($p < 0,05$) ніж після інших типів портосистемних анастомозів, що забезпечує значне покращання

результатів лікування пацієнтів даної вікової групи. Результати проведених досліджень сприяють покращенню лікування імунологічних порушень при допечінковій формі портальної гіпертензії за рахунок розробки схем фармакологічної корекції та їх апробації на експериментальних тваринах.

Показники імунного статусу враховуються при моніторингу дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії, для підбору імунокорегуючої терапії з метою уникнення післяопераційних ускладнень, виборі методу хірургічного лікування і тактиці подальшого ведення таких пацієнтів в практиці роботи лікувальних установ України.

Основні теоретичні положення дисертаційної роботи включені до циклу лекцій та практичних занять на кафедрах дитячої хірургії вищих медичних учбових закладів України.

ВИСНОВКИ

1. Допечінкова форма портальної гіпертензії у 100% дітей супроводжується вторинним клітинним імунодефіцитом і нейтропенією, і у 76% -напруженням гуморальної ланки імунітету та функціональною аспленією.

2. Після операцій сплено(супра)ренального шунтування у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії імунологічні показники статистично достовірно більш наближені до вікових норм, у порівнянні із такими після мезентерикокавального шунтування ($p < 0,05$).

3. Як селективне так і неселективне порто-системне шунтування повністю не корегує імунологічні зміни в післяопераційному періоді у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії.

4. В динаміці формування допечінкової форми портальної гіпертензії ключову роль у запуску каскаду імунологічних реакцій відіграє гіперантигенемія за рахунок транслокації кишкової мікрофлори та продуктів її метаболізму в системний кровотік через пошкоджене гемомікроциркуляторне русло кишечника та через лімфатичні вузли, минаючи ланцюг детоксикації в печінці. Ще одним патологічним чинником є

гіперспленізм, що є причиною кількісної недостатності нейтрофільних лейкоцитів та субпопуляції лімфоцитів.

5. Комбінація ензимних препаратів та азоксімер броміду при допечінковій формі портальної гіпертензії дозволяє запобігти змінам ультраструктури мезентеріальних лімфатичних вузлів і селезінки, та ефективно зупинити дегенеративно-дистрофічні процеси в них.

6. Запропонована схема фармакокорекції у 90% експериментальних тварин активізує фагоцитоз, який дозволяє елімінувати бактерії та чужорідні білкові антигени, підвищити стійкість мембран до цитотоксичних речовин та інгібувати перикисне окислення ліпідів.

***Ключові слова:** допечінкова форма портальної гіпертензії, хірургічне лікування, клініко-імунологічні зміни, діти.*

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Джума К.А. Ультраструктура мезентеріальних лімфатичних вузлів та селезінки у щурів при допечінковій формі портальної гіпертензії / К.А. Джума, Л.О.Стеченко, В.П.Притула, С.М.Чухрай, І.М.Трофимова // Світ медицини та біології. – 2014. - №4 (47), стор. 111-115.

2. Dubrovin O. Immune Status in Children with Extrahepatic Portal Hypertension. / O. Dubrovin, V. Prytula, K. Dzhusma, R. Zhezhera // World Research Journal of Critical Care // 2014. – Vol. 2. - №1. - Pp.045-048.

3. Джума К.А. Иммунный статус крыс в динамике после моделирования допеченочной формы портальной гипертензии и коррекции вобензимом и полиоксидонием / К.А. Джума, В.П. Притула, О.Г. Дубровін, О.С. Годік // Хирургия. Восточная Европа. – 2015. - №3 (15). - С.149-156.

4. Джума К.А. Вплив різних типів портокавального шунтування на стан імунної системи у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії / К.А. Джума, В.П. Притула, О.Г. Дубровін, О.С. Годік // Хірургія дитячого віку. – 2019. – 2 (63). – С.41 – 49.

5. Джума К.А. Ультраструктура мезентеріальних лімфатичних вузлів та селезінки у щурів з допечінковою формою портальної гіпертензії після лікування вобензимом та поліоксидонієм / К.А. Джума // Вісник морфології. – 2015. - Том 21, №1, С. 26-30.

6. Джума К.А. Клініко-імунологічні зміни у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії / К.А. Джума, В.П. Притула, О.С. Годік, М.І. Іщенко // Український науково-медичний молодіжний журнал. – Київ, 2012. –№1. – С.52-58.

7. Джума К.А. Імунологічні зміни після портокавального шунтування у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії / К.А.Джума, В.П.Притула, О.С.Годік, М.І. Іщенко // Український науково-медичний молодіжний журнал. – Київ, 2012. –№3. С.60-65.

8. Dzhuma K. Ultrastructure of mesenterial lymphatic nodes and spleen in rats with extrahepatic portal hypertension after treatment with vobenzym and polyoxydonium / K. Dzhuma, V. Prytula, O. Godik, E.Rudenko // Abstract book of 20-th European Congress of Paediatric Surgeons Association.- 2019, p.76.

9. Dzhuma K. Immune status of children with extrahepatic portal hypertension after different types of portosystemic bypass operations / K. Dzhuma, V. Prytula, O. Godik, R. Zhezhera // Abstract book of 20-th European Congress of Paediatric Surgeons Association.- 2019, p.118.

10. Dzhuma K. Immune status in children with extrahepatic portal hypertension / K.Dzhuma, O. Dubrovin, V. Prytula, O. Godik, R. Zhezhera // Abstract book of 16-th European Congress of Paediatric Surgeons Association.- 2015, p.65.

11. Джума К.А. Зміни показників імунного статусу у щурів в динаміці після моделювання допечінкової форми портальної гіпертензії та після імунокорекції вобензимом та поліоксидонієм / К.А. Джума, О. С. Годік, Р. В. Жежера, В. П. Соручан // Збірник тез XXIII з'їзду хірургів України. – 2015. - С.405-406.

12. Джума К.А. Зміни імунного статусу при допечінковій формі портальної гіпертензії в динаміці та після імунокорекції вобензимом та поліоксидонієм /

К.А.Джума // Український науково-медичний молодіжний журнал. - 2014. – №4., С. 77-78.

13. Джума К.А. Иммуный статус детей с доечёночной формой портальной гипертензии / К.А.Джума //Материалы XIX российской научной студенческой конференции «Актуальные вопросы детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии». – Орёл, 2012. – с.63

14. Джума К.А. Імунний статус дітей після різних типів портосистемного шунтування: порівняльний аналіз / К.А.Джума, О.С.Годік, А.А.Джума // Український науковомедичний молодіжний журнал. - 2012. - №3. – С.103-104.

15. Джума К.А., Состояние иммунной системы у детей с допечёночной формой портальной гипертензии / К.А.Джума // Вестник Российского государственного медицинского университета. - Москва, 2012. - №1. – С.175-176.

16. Джума К.А. Стан імунної системи у дітей з допечінковою формою портальної гіпертензії / К.А.Джума, В.П.Притула, О.С., Годік// Український науково-медичний молодіжний журнал. – Київ, 2010. – №4. – С.28-29.

17. Дубровін О.Г. Спосіб моделювання допечінкової форми портальної гіпертензії у щурів / О.Г. Дубровін, П.Л. Бик П.Л., К.А. Джума, Р.С. Довгань, В.П. Притула, О.С. Годік, В.М. Ліходієвський, С.М. Чухрай С.М.// Пат. 69539 U, Україна(UA), МПК А61В17/00. Бюл.№8, 2012.

18. Чухрай С.М. Спосіб визначення змін ліпідного метаболізму у тканинах експериментальних щурів при синдромі портальної гіпертензії / С.М. Чухрай Т.С. Брюзгіна, К.А.Джума, М.В. Лашенко, Р.С. Довгань, Т.П. Куфтирева // Пат. 80463 U, Україна(UA) МПК G01N 33/00. Бюл.№10, 2013.

19. Джума К.А. Спосіб оцінки ліпідних порушень у тканинах експериментальних щурів при синдромі портальної гіпертензії. / К.А.Джума, С.М. Чухрай, Т.С. Брюзгіна, Р.С. Довгань, В.В. Ліходієвський, О.О.Шумейко // Пат. 69539 U, Україна(UA), МПК А61В17/00. Бюл.№8, 2012р.