

## КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ПЕЧЕНИ

© 2019 г. Е. С. Литвинова\*, А. И. Конопля

\*E-mail: [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru)

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Курск, Россия

Поступила: 26.02.2019. Принята: 12.03.2019

При экспериментальной острой ишемии печени установлена супрессия формирования клеточной и гуморальной форм иммунного ответа на эритроциты барана, снижение функционально-метаболической активности нейтрофилов циркулирующей крови. Установлено, что белки культуральной жидкости аллогенных гепатоцитов новорожденных крыс с ММ менее 130 кД обладают выраженной иммунокорректирующей эффективностью, а белки более 130 кД такой активностью не обладают.

**Ключевые слова:** острая ишемия печени, белки аллогенных гепатоцитов, иммунокоррекция

DOI: 10.31857/S102872210006631-9

Адрес: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра патологической анатомии, Литвинова Екатерина Сергеевна. Тел.: 89103140949.

E-mail: [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru)

Авторы:

Литвинова Е. С., к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия; Конопля А. И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биохимии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия.

Проблема диагностики и терапии острых заболеваний печени продолжает оставаться актуальной и в настоящее время из-за сложности дифференциальной диагностики и оптимального выбора эффективных способов лечения на фоне продолжающегося роста количества пациентов с данной нозологией [1, 2]. Иммунные нарушения, возникающие при гипоксии различного генеза, и механизмы их развития остаются все еще малоизученными [3]. Раскрытию данных нарушений при хроническом и остром ишемическом поражении печени (ОИПП), разработке способов их фармакологической коррекции в настоящее время уделено недостаточное внимание.

В связи с этим целью исследования стало исследование эффективности выделенных белков

из культуральной жидкости аллогенных гепатоцитов в коррекции иммунных нарушений при остром ишемическом поражении печени.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на здоровых половозрелых крысах Вистар с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных. ОИПП вызывали оперативным методом под внутрибрюшинным гексеналовым наркозом путем пережатия гепатодуоденальной связки с помощью турникета в течение 20 минут. Выделение аллогенных гепатоцитов от новорожденных животных производилась по методике M. N. Berry, D. S. Friend [4], из которых получали культуральную жидкость (КЖАГ) [5]. Для получения белков из КЖАГ их осаждали трехуксусной кислотой, после центрифугирования осадок разводили в 0,9% растворе хлорида натрия и диализовали в двух сменах фосфатно-солевого буфера. После определения концентрации белка и доведения его 0,9% раствором хлорида натрия до 5 мг/мл, полученный раствор фильтровали через стерилизационные мембраны 0,2 мкм, расфасовывали в стерильные флаконы по 2 мл и лиофилизовали на установке лиофильной сушки «VIRTIS». Полученные белки КЖАГ начинали вводить одновременно

с моделированием острой ишемии печени внутрибрюшинно, пятикратно, с 24-часовым интервалом, из расчета 5 мг/кг белка. В качестве контроля использовали здоровых крыс и ложнооперированных.

Для развития гуморального и клеточного иммунного ответа использовали эритроциты барана (ЭБ). Выраженность гуморального иммунного ответа (ГИО) оценивали на пятые сутки после иммунизации путем определения в селезенке числа антителообразующих клеток (АОК). О выраженности гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) судили по разнице масс (РМ) регионарного и контралатерального лимфатических узлов и по разнице количества в них кариоцитов (РК). Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови оценивалась по фагоцитарному показателю, фагоцитарному числу и индексу активности фагоцитоза (ФП, ФЧ, ИАФ), а кислородзависимую – по НСТ-тестам спонтанному (НСТ-сп.) и стимулированному опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з), коэффициентам опсонизации, активации на опсонизированный и неопсонизированный зимозан (КО, КАН, КАо). Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления медианы (Ме) и 25 и 75 перцентилей с помощью пакета компьютерной программы Statistica 8. Существенность различий оценивали по U-критерию Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ОИПП приводит к супрессии развития ГИО и ГЗТ на ЭБ и снижению функционально-метаболической активности циркулирующих нейтрофилов. Белки КЖАГ с ММ более 130 кД не влияли при их введении на изученные параметры адаптивного и врожденного иммунитета. Введение же белков КЖАГ с ММ менее 130 кД нормализует показатели ГЗТ (РМ и РК), фагоцитарной (ФП, ФЧ и ИАФ) и кислородзависимой метаболической (НСТ-сп., НСТ-ст. н/з и о/з, КО) активности полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической крови и корригирует формирование ГИО (АОК) и значения

функционального резерва нейтрофилов в ответ на стимуляцию неопсонизированным и опсонизированным зимозаном (КАн и КАо)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Евсеева М. Н., Шептулина А. Ф., Рубцов Ю. П. Перспективы создания аутологических гепатоцитов для лечения печеночной недостаточности. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2015. – № 6. – С. 49–57. [Evseeva M. N., Sheptulina A. F., Rubtsov Yu. P. Prospects of autologous hepatocytes for liver failure treatment. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. – 2015. – № 6. – S. 49–57.]
2. Терехова С. В., Быстрова Н. А., Литвинова Е. С., Гаврилюк Е. В. Коррекция аллогенными гепатоцитами иммунометаболических нарушений при экспериментальной ишемии печени. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 414–417. [Terehova S. V., Bystrova N. A., Litvinova E. S., Gavriluk E. V. Correction of allogeneic hepatocytes and immunometabolic disorders in experimental liver ischemia. System analysis and management in biomedical systems. – 2012. – Т. 11, № 2. – S. 414–417.]
3. Николаев С. Б., Быстрова Н. А., Лазаренко В. А., Конопля А. И. Иммунометаболические нарушения в условиях гипоксии и их фармакологическая коррекция. – Курск: Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Росздрава России, 2010. – 226 с. [Nikolaev S. B., Bystrova N. A., Lazarenko V. A., Konoplia A. I. Immunometabolic disorders in hypoxia and their pharmacological correction. – Kursk: Izd-vo GO VPO KGMU Roszrava Rossii, 2010. – S. 226.]
4. Berry M. N., Friend D. S. High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells. The journal of Cell Biology. – 1969. – Vol. 43, N3. – P. 506–520.
5. Разумова М. С., Литвинова Е. С., Быстрова Н. А., Локтионов А. Л. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов периферической крови при использовании ксено-, аллогенных гепатоцитов, фибробластов и их культуральной жидкости при экспериментальном остром токсическом поражении печени. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2015. – Т. 14, № 4. – С. 714–720. [Razumova M. S., Litvinova E. S., Bystrova N. A., Loktionov A. L. Functional metabolic activity of peripheral blood neutrophils using xeno-, allogeneic hepatocytes, fibroblasts and their culture fluid in experimental acute toxic liver damage. System analysis and management in biomedical systems. – 2015. – Т. 14, № 4. – S. 714–720.]

## CORRECTION OF IMMUNE DISORDERS IN EXPERIMENTAL ACUTE LIVER ISCHEMIA

© 2019 E. S. Litvinova\*, A. I. Konoplya

\*E-mail: [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru)

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Received: 26.02.2019. Accepted: 12.03.2019

In experimental acute ischemia of the liver, suppression of the formation of the cellular and humoral forms of the immune response to sheep erythrocytes, a decrease in the functional and metabolic activity of circulating blood neutrophils has been established. It was established that proteins of the culture fluid of allogeneic hepatocytes of newborn rats with MM less than 130 kD have a pronounced immunocorrective efficiency, and proteins more than 130 kD do not possess such activity.

*Key words:* acute liver ischemia, proteins allogenic hepatocytes, immunocorrection

### Authors:

**Litvinova E. S.**, ✉ PhD, Assistant Professor, the Pathology Anatomy Department, FSBEI HE Kursk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia. **E-mail:** [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru);

**Konoplya A. I.**, MD, Professor, Distinguished Academic, Head of the Department of Biological Chemistry, FSBEI HE Kursk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia.