

©Коллектив авторов

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ТЕТРАХЛОМЕТАНОВОМ, ИШЕМИЧЕСКОМ И АЛКОГОЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Е.С. Литвинова¹, А.И. Коноля¹, И.М. Холименко^{2}, В.П. Гаврилюк¹, А.Г. Коцарь²*

¹Курский государственный медицинский университет,
305041, Курск, ул. К. Маркса, 3

²Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи,
305047, Курск, ул. Пирогова, 14; *эл. почта: kholimenko@yandex.ru

Целью данной работы было установление взаимосвязи между метаболическими и иммунологическими нарушениями при остром тетрахлометановом, ишемическом и алкогольном поражении печени. Исследования выполнены на 96 половозрелых крысах-самцах Вистар массой 120-160 г, на которых моделировали тетрахлометановое, ишемическое и алкогольное поражение печени. После определения метаболических и иммунологических показателей анализировали корреляционные взаимосвязи между изучаемыми параметрами на фоне экспериментальных моделей патологии. Выявленные тесные корреляционные связи между исследованными иммунными и метаболическими параметрами при развитии тетрахлометанового, ишемического и алкогольного поражения печени свидетельствуют о существовании “напряжённости” между показателями иммунного и метаболического статусов. Такие тесные корреляционные связи между исследованными иммунологическими и метаболическими параметрами на системном и местном уровнях могут служить для оценки тяжести заболевания, его прогноза, эффективности лечения и проведения профилактических мероприятий.

Ключевые слова: экспериментальное поражение печени; иммунные и метаболические нарушения; корреляция

DOI: 10.18097/PBMC20206605392

ВВЕДЕНИЕ

Проблема хронических заболеваний гепатобилеарной зоны, в частности печени, находится среди приоритетных национальных программ системы здравоохранения граждан в развитых и развивающихся странах. К числу главенствующих этиологических факторов, определяющих начало и дальнейшее прогрессирование хронических заболеваний печени, относятся длительное отравление токсическими веществами, в том числе и употребление алкоголя [1].

Цикличность процессов повреждения/репарации гепатоцитов при диффузном фиброгенезе, индуцированном большинством гепатотоксических факторов, характеризуется чрезмерным отложением в печени компонентов внеклеточного матрикса (коллаген, гликопротеины и гиалуронаты), молекулярная и гистологическая перегруппировка которых опосредует структурные и функциональные нарушения в этом органе [2].

Активация системных и/или локальных универсальных механизмов продуктивного воспаления, направленных на элиминацию гепатотропных агентов и/или токсических продуктов метаболизма, в целом, опосредует нарушение тканевого гомеостаза органа и способствует прогрессии фиброгенеза с формированием цирроза и хронической печёночной недостаточности [3].

Отражением всех вышеперечисленных процессов является изменение биохимических, гуморальных и клеточных параметров на системном уровне.

Многочисленные исследования, касающиеся роли системы крови как интегральной системы гомеостаза организма, обуславливают актуальность и своевременность установления взаимосвязей метаболических и иммунологических нарушений при различных видах патологии печени.

Целью исследования было установление корреляционной взаимосвязи между метаболическими и иммунологическими нарушениями при остром экспериментальном тетрахлометановом, ишемическом и алкогольном поражении печени для оценки тяжести, эффективности их коррекции и прогноза.

МЕТОДИКА

Исследования проведены на 96 крысах-самцах Вистар массой 100-160 г. При закупке животных и транспортировке их из другого города на территорию вивария Курского государственного медицинского университета (КГМУ) все лабораторные животные до включения их в исследования изолируются на двухнедельный карантин с целью исключения продромального (инкубационного) периода инфекционных заболеваний и других соматических патологий, которые бы могли повлиять на результаты экспериментальных исследований. Исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 часов.

Все животные были разделены на 3 группы по 32 особи в группе (тетрахлорметановое, ишемическое и алкогольное поражение печени). В каждой группе было 2 подгруппы по 16 животных — основная и контрольная.

Острую интоксикацию тетрахлорметаном (ЧХУ) у лабораторных животных вызывали путём внутримышечного его введения в дозе 3 мл/кг в виде 50% раствора в оливковом масле пятикратно с интервалом 24 ч [4]. Контрольной группе внутримышечно аналогичным расчётом и кратностью вводили 0,9% раствор натрия хлорида.

Острое ишемическое поражение печени (ОИПП) моделировали хирургическим путём. Для этого для каждой особи применяли однократный гексеналовый наркоз (30 мг/кг, внутривенно). Для операционного доступа была выбрана верхнесрединная лапаротомия. Ишемическое повреждение печени вызывали пережатием *lig. hepatoduodenale* турникетом в течение 20 мин. Перед пережатием производили инфильтрацию *lig. hepatoduodenale* 0,5% раствором новокаина (0,5 мл). Лигатуру с *lig. hepatoduodenale* снимали после истечения 20-минутной окклюзии. Операционную рану через все слои зашивали послойно, затем обрабатывали 2% раствором йода и накладывали асептическую марлевую повязку с антисептиком [5]. Контрольной группе также проводилась верхнесрединная лапаротомия и инфильтрация связки *lig. hepatoduodenale* 0,9% раствором натрия хлорида (0,5 мл), но без пережатия *lig. hepatoduodenale*.

Алкогольную интоксикацию моделировали принудительным внутривенным введением 20% раствора этанола в дозе 2 мл/кг (2,92 г/кг) каждые 24 ч в течение 60 дней [6]. Контрольной группе аналогичным способом и расчётом вводили 0,9% раствор натрия хлорида.

У экспериментальных животных взятие крови на исследование производили под наркозом, методом внутрисердечной инъекции. Плазму и эритроциты получали центрифугированием гепаринизированной крови при 400 g в течение 5 мин.

Оценка иммунологических нарушений основывалась на определении иммунологической реактивности и фагоцитарной и кислород-зависимой активности нейтрофилов.

Оценка иммунологической реактивности основывалась на показателях гуморального иммунного ответа (ГИО) (количество антителообразующих клеток — АОК) и гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) (разнице масс регионарного и контрлатерального лимфатических узлов — РМ и по разнице количества в них кариоцитов — РК) [7, 8].

Нейтрофилы из взятой крови осуществляли в градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho=1,078$). В периферической крови оценивали фагоцитарную активность нейтрофилов с использованием фагоцитарного числа, фагоцитарного показателя, индекса активности фагоцитоза (ФЧ, ФП, ИАФ). Кислород-зависимую активность нейтрофилов оценивали НСТ-спонтанным (НСТ-сп.) и НСТ-стимулированным неопсонизированным и опсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з) тестом (НСТ-тест — тест на восстановление нитросинего тетразолия), коэффициентам опсонизации, активации на неопсонизированный и опсонизированный зимозан (КО, КАН, КАО) [9].

Оценка метаболических нарушений основывалась на определении концентрации малонового диальдегида (МДА), ацилгидроперекисей (АГП), стабильных метаболитов оксида азота, значений общей антиокислительной активности (ОАА), активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы.

С помощью специализированного отечественного коммерческого набора ТБК-Агат (“Агат-Мед”, Россия), и спектрофотометра “PD-303” (“Аpel”, Япония) при определённой длине волны (535 нм и 570 нм) оценивали уровень МДА и АГП. Состояние антиоксидантной системы организма оценивали по уровню ОАА, активности СОД и каталазы с применением коммерческих наборов. Метод определения ОАА основан на степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления Твин-80 до МДА. ОАА, активность СОД и каталазы определяли, используя наборы фирмы “Bender Medsystems” (Австрия). Уровень стабильных метаболитов оксида азота (СМ_{NO}) определяли при помощи двух аналитических операций: измерения эндогенного нитрита и превращения нитрата в нитрит с использованием нитритредуктазы с последующим определением общего нитрита по абсорбции азокрасителя в реакции Грисса при длине волны 540 нм. Эти исследования выполнены с использованием коммерческого набора для твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) фирмы “R&D” (Великобритания). Учёт и регистрацию результатов ИФА производили строго при помощи одного автоматического ридера для ИФА “Эфос 9305” (Россия).

Для комплексной оценки эффективности препаратов и гистоморфологического подтверждения моделируемых патологических процессов проведено гистологическое исследование печени.

Для выполнения статистических расчётов весь полученный в ходе исследования цифровой материал подвергали статистической обработке в компьютерной программе Microsoft Excel 2010. Для оценки принадлежности количественных признаков к виду распределения использовали тест Шапиро-Уилка. Оценку статистической значимости различий количественных величин осуществляли с использованием критериев Стьюдента, Манна-Уитни и Вилкоксона (при сравнении зависимых групп). Значения нормально распределённых количественных параметров представлены в виде среднего арифметического (М) \pm стандартной ошибки среднего (SEM), а ненормально распределённых — медианой (Me) с межквартильным интервалом (P25; P75). Взаимосвязи устанавливали на основании коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гипоксические состояния осложняют течение многих заболеваний различного генеза, являясь важнейшей составляющей самых разнообразных нозологических форм патологии: все виды дыхательной, сердечно-сосудистой недостаточности, кровопотери, ишемия миокарда, нарушения мозгового

или периферического кровообращения, термические и механические травмы. В хирургической практике нередко приходится на время прекращать кровоснабжение оперируемого органа, создавая искусственную ишемию. Это определяет исключительную важность и социальную значимость проблемы защиты организма от кислородной недостаточности и энергодефицита [10, 11].

Согласно полученным нами данным, острая ишемия печени супрессирует развитие ГИО и ГЗТ на ЭБ, о чём свидетельствует снижение иммунных АОК в селезенке, РМ и РК в подколенных региональных и контрлатеральных лимфатических узлах. При ОИП снижаются показатели функционально-метаболической активности циркулирующих нейтрофилов за исключением отношения неопсонизированного НСТ-теста к спонтанной реакции (КАн), которое не изменяется. В условиях острой ишемии печени развивается оксидантный стресс и интенсифицируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) на системном и локальном уровне: в плазме крови повышается в 3,2 раза концентрация МДА и АГП, в эритроцитах соответственно в 4,2 раза и 3,4 раза, снижаются факторы антиоксидантной защиты (в плазме и эритроцитах соответственно ОАА в 1,2 раза, активность СОД в 2,0 раза и 2,1 раза, каталазы в 1,6 раза и 1,5 раза) и уровень стабильных метаболитов оксида азота в плазме в 1,9 раз. Кроме этого выявлено снижение сорбционных свойств эритроцитов (СЕЭ в 2,1 раза и СЕГ в 2,2 раза) (табл. 1, 2).

Полученные результаты свидетельствуют о выраженных изменениях иммунной реактивности, функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов, развитии оксидантного стресса, усилении процессов ПОЛ на системном (плазма крови) и локальном уровне (эритроциты) и нарушении сорбционных свойств клеток красной крови в условиях ишемического поражения печени.

При изучении острой интоксикации ЧХУ установлено повышение большинства показателей фагоцитарной и кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови за исключением функционального резерва нейтрофилов КАН (норма), отношения опсонизированного НСТ-теста к спонтанной реакции (КАо) (снижение) и показателя степени дикретности ответа на опсонизированный и неопсонизированный зимозан — соотношения опсонизированного и неопсонизированного НСТ-теста (КО) (снижение).

Острое токсическое поражение печени ЧХУ повышает формирование гуморальной (ГИО) и клеточной форм (ГЗТ) адаптивного иммунитета, индуцированного ЭБ, о чём свидетельствует значительное увеличение иммунных АОК, РМ и РК у отравленных животных.

При изучении состояния ПОЛ и факторов антиоксидантной защиты при интоксикации ЧХУ установлена активация процессов ПОЛ (повышен уровень МДА и АГП в плазме крови и эритроцитах), снижены показатели антиоксидантной защиты

на системном и местном уровне (ОАА, активность СОД и каталазы).

Повреждающее действие ЧХУ на печень связано с образованием свободных радикалов CCl_3 и CCl_4 в результате его метаболизма под влиянием ферментной монооксигеназной системы цитохромов P450 и P448. Метаболиты токсического агента свободнорадикальной природы инактивируют ферментные системы, активируют процессы ПОЛ, снижают активность антиоксидантной системы, что является фактором патогенеза многих заболеваний, приводят к повреждению мембран эндоплазматического ретикулума и, как следствие, изменению синтеза белка в клетке, нарушению её многочисленных функций со значительным изменением скорости биосинтеза альбуминов, белков свёртывающей и антисвёртывающей систем крови, липопротеинов низкой и очень низкой плотности, а также проникновение в сосудистое русло цитоплазматических, митохондриальных и лизосомных ферментов, накопление токсических тканевых метаболитов, свободного и связанного билирубина, конъюгированных и неконъюгированных желчных кислот [4, 12, 13].

Относительно длительного пагубного воздействия этанола (60 дней), в нашей работе у экспериментальных животных наблюдается активация процессов ПОЛ (повышение концентрации МДА и АГП), падают факторы антиоксидантной защиты (снижение ОАА и активности каталазы, СОД). Кроме этого, выявлено снижение уровня CM_{NO} . При оценке показателей функциональной активности эритроцитов циркулирующей крови по сравнению с контролем при алкогольной интоксикации установлено повышение продуктов ПОЛ (МДА, АГП), снижение активности ферментов антиоксидантной защиты (СОД, каталаза), CM_{NO} и сорбционных свойств мембраны красных клеток крови (ССЭ, СЭГ).

В отношении функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови отмечено снижение их фагоцитарной способности (снижение ФП, ФЧ, ИАФ) при активации кислород-зависимого метаболизма (повышение НСТ-спонтанного и стимулированного зимозаном и ФРН) (табл. 3, 4).

Патогенез выявленных метаболических и иммунологических нарушений можно объяснить, основываясь на концепции взаимообусловленности данных звеньев гомеостаза. Для этого нами проведён анализ матрицы множественной корреляции между составляющими метаболического и иммунологического статусов, результаты которого представлены в таблицах. А также выполнен корреляционный анализ между показателями метаболического статуса на местном и системном уровне при остром тетрахлометановом, ишемическом и алкогольном поражении печени.

С помощью корреляционного анализа осуществляли выявление достоверных связей в зависимости от группы животных между различными системами иммунологических и метаболических параметров: иммунный статус, метаболический статус в плазме крови и эритроцитов.

Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при токсическом поражении печени на системном уровне, нами установлено 9 достоверных сильных прямых и обратных корреляционных связей. Так, динамика уровня в плазме крови показателей АОК и КАо связана с изменениями 4 и 2 показателей метаболического статуса соответственно, а активность каталазы коррелирует с тремя показателями иммунного статуса (табл. 1).

Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при токсическом поражении печени на местном уровне, нами выявлено 8 достоверных связей. При этом динамика метаболического показателя ОАА на местном уровне связана с 4 показателями иммунного статуса (РМ, РК, КАо, КО), а показатель иммунного статуса РМ коррелировал с двумя показателями метаболического статуса (МДА и ОАА) (табл. 2).

Сравнивая между собой значения полученные при корреляции между показателями метаболического статуса при токсическом поражении печени на системном и местном уровне получено 7 сильных взаимосвязей. Показатели плазмы крови СОД, каталаза и CM_{NO} имели по две взаимосвязи с показателями эритроцитов, соответственно СОД и каталаза (ОАА, СЕГ), а CM_{NO} (МДА, АГП). Показатель местного уровня ОАА имел три сильных взаимосвязи с показателями системного уровня (АГП, СОД, каталаза) (табл. 3).

Далее нами был проведен аналогичный корреляционный анализ, но при ишемическом поражении печени. Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при ишемическом поражении печени на системном уровне, нами установлено 7 достоверных сильных прямых и обратных корреляционных связей. При этом динамика МДА и СОД связана с изменениями 3 и 2 показателей иммунного

Таблица 1. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при токсическом поражении печени на системном уровне

Показатели	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	CM_{NO}	Сумма
АОК	-0,60	0,32	0,60	-0,11	-0,60	0,60	4
РМ	0,20	0,30	0,16	-0,44	-0,46	0,10	—
РК	-0,21	0,04	-0,02	-0,43	-0,39	-0,30	—
ФП	0,41	-0,43	-0,15	0,27	0,31	0,20	—
ФЧ	-0,10	-0,10	-0,34	-0,29	-0,16	-0,31	—
ИАФ	0,40	-0,60	-0,36	0,15	0,38	-0,16	1
НСТ-сп.	0,05	-0,42	0,01	-0,24	-0,09	-0,11	—
НСТ-ст. н/з	0,11	-0,31	-0,02	-0,28	-0,10	0,01	—
НСТ-ст. о/з	0,42	-0,26	0,02	-0,16	0,04	0,16	—
КАн	0,60	-0,09	-0,10	0,19	0,19	0,16	1
КАо	-0,20	-0,41	0,38	0,70	0,60	0,25	2
КО	0,042	-0,29	0,03	0,51	0,60	0,19	1
Сумма	2	1	1	1	3	1	9

Таблица 2. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при токсическом поражении печени на местном уровне

Показатели	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	СЕЭ	СЕГ	Сумма
АОК	-0,04	0,11	-0,22	0,02	0,27	0,20	0,46	—
РМ	-0,60	0,45	-0,62	0,22	-0,37	0,25	0,07	2
РК	0,12	-0,20	-0,60	-0,13	-0,01	0,19	0,13	1
ФП	-0,22	0,60	0,22	0,43	0,13	0,05	-0,07	1
ФЧ	0,03	-0,23	-0,28	-0,15	0,32	-0,04	-0,07	—
ИАФ	0,10	-0,17	0,40	-0,64	0,01	-0,18	-0,13	1
НСТ-сп.	-0,07	-0,33	-0,10	-0,25	0,27	0,09	0,16	-
НСТ-ст. н/з	0,27	-0,64	0,28	-0,38	-0,20	-0,16	0,22	1
НСТ-ст. о/з	-0,11	-0,08	0,10	-0,21	-0,40	-0,20	0,23	—
КАн	-0,21	0,07	-0,10	-0,10	0,39	0,32	0,04	—
КАо	0,13	0,48	0,60	0,38	0,06	-0,07	-0,10	1
КО	-0,01	0,44	0,61	0,48	-0,03	-0,32	-0,18	1
Сумма	1	2	4	1	—	—	—	8

ИММУННЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Таблица 3. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического статуса при токсическом поражении печени на системном и местном уровне

Показатели	Системный уровень (плазма крови)						
Местный уровень (эритроциты)	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	СМ _{NO}	Сумма
МДА	-0,37	-0,33	-0,17	0,37	0,29	-0,60	1
АГП	0,01	0,23	0,40	0,41	0,13	0,60	1
ОАА	-0,10	-0,60	-0,30	0,62	0,72	-0,25	3
СОД	0,01	0,24	0,22	-0,04	-0,10	0,37	—
Каталаза	-0,42	-0,11	0,18	0,37	0,10	0,42	—
СЕЭ	0,05	-0,11	0,41	0,01	-0,33	0,17	—
СЕГ	0,33	0,02	0,16	-0,60	-0,70	0,03	2
Сумма	—	1	—	2	2	2	7

Таблица 4. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при острой ишемии печени на системном уровне

Показатели	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	СМ _{NO}	Сумма
АОК	0,18	-0,60	-0,13	0,40	-0,19	0,26	1
РМ	-0,17	-0,24	-0,31	0,22	0,11	0,26	—
РК	0,60	0,29	0,04	-0,33	-0,01	-0,08	1
ФП	0,18	0,27	0,08	0,05	-0,21	-0,72	1
ФЧ	-0,17	-0,05	0,03	0,68	0,16	-0,26	1
ИАФ	0,03	0,26	0,36	0,72	0,07	-0,38	1
НСТ-сп.	0,15	0,34	0,21	-0,2	0,40	0,09	—
НСТ-ст. н/з	0,60	0,16	-0,05	-0,21	-0,01	-0,07	1
НСТ-ст. о/з	0,60	0,14	-0,08	-0,24	-0,05	-0,06	1
КАн	-0,12	0,10	-0,35	-0,32	-0,33	-0,14	—
КАо	-0,13	-0,01	-0,36	-0,10	-0,30	-0,21	—
КО	0,07	0,01	0,19	0,12	-0,28	0,02	—
Сумма	3	1	—	2	—	1	7

статуса: МДА с (РК, НСТ-ст. о/з и НСТ-ст. н/з), а СОД с (ИАФ и ФЧ). У ряда иммунологических показателей выявлено по одной связи с метаболическими показателями: АОК с АГП, РК с МДА, ФП с СМ_{NO}, ФЧ с СОД, ИАФ с СОД, НСТ-ст. н/з и НСТ-ст. о/з с МДА (табл. 4).

Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при острой ишемии печени на местном уровне, установлено 12 достоверных сильных корреляционных связей. Так, динамика уровня ФП и КАо связана с тремя показателями метаболического статуса, (МДА, АГП, каталаза) и (АГП, каталаза, СЕЭ) соответственно. Метаболический показатель СОД был взаимосвязан с тремя иммунологическими показателями: ФЧ, ИАФ и КАН (табл. 5).

Сравнивая показатели, полученные при составлении матрицы Спирмена, между значениями метаболического статуса на системном и местном уровне, также выявлен ряд взаимосвязей. Установлено 8 корреляционных связей; так, при этом, показатели плазмы имели 3 достоверных связи для уровня

каталазы (ОАА, каталаза, СЕЭ), по две взаимосвязи у АГП (МДА, каталаза) и СМ_{NO} (МДА, ОАА). Показатели эритроцитов (местный уровень) МДА, ОАА и каталаза имели по 2 сильных связи с показателями метаболического статуса на системном уровне (табл. 6).

Последним нами был проведён аналогичный корреляционный анализ, в котором изучались взаимосвязи, полученные при изучении интоксикации этанолом.

Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического статуса эритроцитов и функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови при интоксикации этанолом, установлены 7 достоверных связей. При этом динамика уровня каталазы, определяемая на местном уровне, была связана с тремя показателями функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови (ФП, ИАФ, НСТ-сп.). Также три показателя метаболического статуса эритроцитов были связаны с динамикой показателя НСТ-ст. характеризующего функционально-метаболическую активность нейтрофилов (табл. 7).

Таблица 5. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при острой ишемии печени на местном уровне

Показатели	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	СЕЭ	СЕГ	Сумма
АОК	0,31	-0,20	-0,28	-0,21	-0,48	-0,44	-0,42	—
РМ	0,15	0,01	0,08	0,10	0,25	0,10	-0,12	—
РК	-0,11	0,27	-0,02	-0,28	-0,04	0,12	0,27	—
ФП	-0,61	-0,62	0,32	-0,23	-0,60	0,10	-0,26	3
ФЧ	-0,19	0,22	-0,70	0,81	0,09	0,02	0,06	2
ИАФ	-0,38	0,01	0,11	0,75	0,08	0,11	-0,13	1
НСТ-сп.	-0,05	0,06	0,47	-0,22	0,24	-0,06	0,02	—
НСТ-ст. н/з	-0,10	0,27	0,05	-0,37	-0,15	0,14	0,28	—
НСТ-ст. о/з	-0,08	0,25	-0,07	-0,36	-0,15	0,13	0,25	—
КАн	-0,10	-0,42	0,07	-0,60	-0,43	-0,60	-0,20	2
КАо	-0,16	-0,60	0,05	-0,46	-0,60	-0,60	-0,40	3
КО	0,10	-0,24	0,18	-0,10	-0,33	-0,60	-0,10	1
Сумма	1	2	1	3	2	3	—	12

Таблица 6. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического статуса при ишемическом поражении печени на системном и местном уровне

Показатели	Системный уровень (плазма крови)						Сумма
Местный уровень (эритроциты)	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	СМ _{NO}	Сумма
МДА	-0,05	-0,60	-0,10	-0,24	-0,40	0,95	2
АГП	0,13	0,43	0,18	-0,04	0,22	0,42	—
ОАА	0,10	0,46	0,22	0,14	0,71	-0,60	2
СОД	-0,03	0,20	0,40	0,60	0,32	-0,27	1
Каталаза	-0,20	0,60	0,14	-0,23	0,60	0,21	2
СЕЭ	0,41	0,45	0,47	0,10	0,60	-0,43	1
СЕГ	0,06	0,54	0,10	-0,23	0,05	0,35	—
Сумма	—	2	—	1	3	2	8

Таблица 7. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического статуса эритроцитов и функционально-метаболическая активность нейтрофилов периферической крови при интоксикации этанолом

Показатели	Метаболический статус эритроцитов							Сумма
Нейтрофилы периферической крови	МДА	АГП	СОД	Каталаза	СМ _{NO}	ССЭ	СЕГ	Сумма
ФП	-0,21	-0,17	0,22	0,74	0,03	0,81	0,80	2
ФЧ	-0,20	0,32	-0,17	0,41	0,36	0,04	0,13	—
ИАФ	0,08	0,17	-0,16	0,60	-0,20	0,36	-0,03	1
НСТ-сп.	0,01	0,36	0,26	0,60	0,16	0,29	0,10	1
НСТ-ст.	-0,15	-0,60	0,21	0,30	-0,04	0,60	0,64	3
ФРН	0,02	0,31	0,16	0,17	0,07	0,13	0,33	—
ИСН	0,01	-0,32	0,10	0,17	0,22	-0,10	0,15	—
Сумма	—	1	—	3	—	2	1	7

Изучая матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического статуса сыворотки крови и показателями функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови при интоксикации этанолом, определено 7 связей. При этом динамика ОАА была связана с тремя

показателями функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови — ФП, ИАФ, НСТ-сп., а уровень ФП и концентрация НСТ-сп. коррелируют с двумя показателями метаболического статуса сыворотки крови — (ОАА, СОД) и (ОАА, СМ_{NO}) соответственно (табл. 8).

ИММУННЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Таблица 8. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического статуса сыворотки крови и показателями функционально-метаболическая активность нейтрофилов периферической крови при интоксикации

Показатели	Метаболический статус сыворотки крови (системный уровень)						
Нейтрофилы периферической крови	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	СМ _{NO}	Сумма
ФП	0,37	0,29	0,66	0,88	0,28	-0,48	2
ФЧ	0,17	0,24	0,11	-0,01	-0,60	-0,25	1
ИАФ	0,15	-0,05	0,66	0,02	-0,19	-0,35	1
НСТ-сп.	0,07	0,40	0,60	-0,12	0,10	-0,60	2
НСТ-ст.	0,14	0,10	0,32	0,81	0,43	-0,19	1
ФРН	0,48	0,34	-0,13	0,15	-0,04	-0,15	—
ИСН	-0,31	0,22	0,04	0,11	-0,45	-0,24	—
Сумма	—	—	3	2	1	1	7

Таблица 9. Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического статуса на местном и системном уровне при интоксикации этанолом

Показатели	Местный уровень (эритроциты)							
Системный уровень (плазма крови)	МДА	АГП	СОД	Каталаза	СМ _{NO}	ССЭ	СЕГ	Сумма
МДА	0,10	0,60	0,12	0,29	-0,46	0,40	0,62	2
АГП	-0,36	-0,05	0,03	0,47	0,67	0,47	0,41	1
ОАА	-0,32	0,18	0,21	0,90	0,30	0,71	0,60	3
СОД	-0,18	-0,39	-0,05	0,46	0,03	0,70	0,74	2
Кат	-0,11	-0,37	-0,06	-0,01	0,05	0,33	0,23	—
СМ _{NO}	0,45	-0,03	-0,03	-0,78	-0,64	-0,73	-0,60	4
Сумма	—	1	—	2	2	3	4	12

Оценивая матрицу множественной корреляции Спирмена между изучаемыми показателями метаболического статуса на местном и системном уровне, установлено 12 достоверных прямых и обратных связей. Так, динамика СЕГ на местном уровне связана с 4 показателями метаболического статуса на системном уровне (МДА, ОАА, СОД, СМ_{NO}), а концентрация СМ_{NO} определяемая на системном уровне, также была в сильной корреляционной связи с 4 показателями метаболического статуса, определяемого на местном уровне (каталаза, СМ_{NO}, ССЭ, СЕГ) (табл.9).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Работа всех компонентов многогранной системы организма происходит под контролем метаболических реакций и их перестроек, под непрерывным воздействием многочисленных патогенных агентов. В обычной ситуации выраженность биохимических реакций замечательно и очень тонко налажена и выраженного нарушения содержания метаболитов не наступает [14]. При патологии, в том числе при поражении печени, будь то химическое, ишемическое или токсическое воздействие, происходят различные метаболические изменения, взаимосвязь которых с функцией иммунной системы не изучена, а также

не изучена связь этих изменений на местном и системном уровнях.

По полученным результатам можно заключить, что патология печени характеризуется различными негативными изменениями иммуннометаболического гомеостаза [5, 12, 15], главные причины генеза которого, вероятно, связаны с энергодифицитом клеточных структур, принимающих участие в патологическом процессе. Вследствие этого происходит: образование избытка СРК, оксида азота, пероксинитрита, разрушение мембран, падение защитного антиокислительного барьера клеток, рост влияния фосфолипаз, интенсификация процессов ПОЛ в мембранных структурах той же клетки, а также попадание в системный кровоток или быстрый рост высокомолекулярных фрагментов гиалуроновой и хондроитинсерной кислот, МДА, АГП, аномальных метаболитов липидного обмена и различных активных диеновых конъюгатов полинасыщенных жирных кислот [16, 17].

Всё это порождает перестройки в функциях самих иммунцитов и сказывается на их функциональной активности, выявленной при оценке иммунологической реактивности и функциональной активности нейтрофилов. Старт иммунного воспаления, согласно полученных нами данных, тесно коррелирует с падением антиоксидантной защиты организма и интенсификацией процессов ПОЛ [15-17].

По данным литературы и нашим результатам, патологические процессы, протекающие в печени, сопровождаются различными мембранопатологическими процессами, включающими ПОЛ, избыточную активность синтезированных фосфолипаз, недостаток антиоксидантов. Это является неотъемлемой причиной начала любого патологического процесса; образующиеся активные метаболиты кислорода, помимо микробицидного и деструктивного действия, выполняют ещё и важную регуляторную роль, дополняя цитокиновую регуляцию. В отличие от цитокинов, действие СРК локально и не менее специфично. При воспалении СРК участвуют в осуществлении взаимосвязи клеток иммунной системы с эндотелиоцитами, гладкомышечными клетками и нейрочитами. С помощью их регуляторного действия в старт патологического процесса примыкают и другие соматические клетки, входящие в патогенный локус или прилежащие к нему участки [18].

ВЫВОДЫ

1. Выявлены тесные корреляционные связи между исследованными иммунными и метаболическими параметрами. При токсическом поражении печени на системном уровне каталаза коррелирует с тремя показателями иммунного статуса (АОК, КАо, КО), метаболический показатель ОАА на местном уровне связан с 4 показателями иммунного статуса (РМ, РК, КАо, КО). При ишемическом поражении печени на системном уровне МДА связан с тремя показателями иммунного статуса (РК, НСТ-ст. о/з и НСТ-ст. н/з), на местном уровне ФП и КАо связан с тремя показателями метаболического статуса (МДА, АГП, каталаза) и (АГП, каталаза, СЕЭ) соответственно. При алкогольном поражении печени уровень каталазы, на местном уровне, связан с тремя показателями функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови (ФП, ИАФ, НСТ-сп.), а показатель ОАА связан с тремя показателями функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови — ФП, ИАФ, НСТ-сп.

2. Корреляционные связи между показателями иммунного и метаболического статусов, говорят об их очень тесной взаимосвязи и взаимообусловленности в генезе патологического процесса, развивающегося при ишемическом, токсическом и алкогольном поражении печени, что обязательно необходимо учитывать при разработке эффективных способов профилактики и лечения поражений печени в клинике.

3. Данные взаимосвязи могут использоваться в трактовке тяжести состояния заболевания, эффективности проводимого лечения, своевременной и объективной оценке прогноза заболевания, а также обосновать необходимость объём и сроки выполнения профилактических мероприятий и процедур у данной категории больных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Финансирование работы осуществлялось за счёт средств КГМУ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). Исследование одобрено Региональным этическим комитетом (РЭК). Протокол заседания РЭК №9 от 9 ноября 2015 года.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nagy L.E. (2015) Alcohol Research: Current Reviews, **37**(2), 237-250.
2. Zhang F., Little A., Zhang H. (2017) J. Leukoc. Biol., **101**(4), 1015-1027.
3. Lange C.M., Moreau R. (2018) Visc. Med., **34**(4), 276-282.
4. Конопля А.И., Литвинова Е.С., Быстрова Н.А., Разумова М.С., Чувеева Т.В. (2016) Вестник трансплантологии и искусственных органов, **18**(2), 91-98. [Konoplya A.I., Litvinova E.S., Bystrova N.A., Razumova M.C., Chueva T.V. (2016) Vestnik Transplantologii i Iskusstvennykh Organov, **18**(2), 91-98.]
5. Литвинова Е.С., Конопля А.И., Дудка В.Т. (2019) Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье, №1, 103-113. [Litvinova E.S., Konoplya A.I., Dudka V.T. (2019) Kurskiy Nauchno-Prakticheskiy Vestnik Chelovek i Ego Zdorov'e, No.1, 103-113.]
6. Конопля А.И., Локтионов А.Л., Дудка В.В., Долгарева С.А., Сорокин А.В., Бушмина О.Н. (2015) Токсикологический вестник, **134**(5), 25-30. [Konoplya A.I., Loktionov A.L., Dudka V.V., Dolgareva S.A., Sorokin A.V., Bushmina O.N. (2015) Toksikologicheskiy Vestnik, **134**(5), 25-30.]
7. Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В., Череев А.Н., Коган В.Ю. (1993) Руководство по иммунологическим и аллергическим методам в гигиенических исследованиях, Промедэк: Москва, 319 с. [Fedoseeva V.N., Poryadin G.V., Koval'chuk L.V., Cheredeev A.N., Kogan V.Yu. (1993) Rukovodstvo po Immunologicheskim i Allergicheskim Metodam v Gigienicheskikh Issledovaniyakh, Promedek: Moscow, 319 p.]
8. Мальберг К., Зигль Э. (1987) Иммунологические методы, Медицина: Москва сс. 262-267. [Mal'berg K., Zigl' E. (1987) Immunologicheskie Metody, Meditsina: Moscow, pp. 262-267.]
9. Зинкин В.Ю., Годков В.Г. (2004) Клиническая и лабораторная диагностика, №8, 26-29. [Zinkin V.Yu., Godkov V.G. (2004) Klinicheskaya i Laboratornaya Diagnostika, No.8, 26-29.]

10. Забродский П.Ф., Громов М.С., Масляков В.В. (2015) Экспериментальная и клиническая фармакология, **78**(1), 30-33. [Zabrodskiy P.F., Gromov M.S., Maslyakov V.V. (2015) *Ekspperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*, **78**(1), 30-33.]
11. Смахтин М.Ю., Конопля А.И., Северьянова Л.А., Швейнов И.А. (2003) Патологическая физиология и экспериментальная терапия, №2, 19-23. [Smakhtin M.Yu., Konoplya A.I., Sever'yanova L.A., Shveynov I.A. (2003) *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya*, No.2, 19-23.]
12. Дранник Г.Н., Дриянская В.Е., Гайсенюк Ф.З., Руденко М.Ю., Степанова Н.М., Багдасарова И.В., Савченко В.С., Лавренчук О.В., Руденко А.В., Кругликов В.Т. (2013) Иммунология, аллергология, инфектология, **13**(1), 13-19. [Drannik G.N., Driyanskaya V.E., Gaysenyuk F.Z., Rudenko M.Yu., Stepanova N.M., Bagdasarova I.V., Savchenko V.S., Lavrenchuk O.V., Rudenko A.V., Kruglikov V.T. (2013) *Immunologiya, Allergologiya, Infektologiya*, **13**(1), 13-19.]
13. Долгарева С.А., Сорокин А.В., Конопля Н.А., Бушмина О.Н., Быстрова Н.А., Овод А.И. (2018) Биомедицинская химия, **64**(4), 360-367. [Dolgareva S.A., Sorokin A.V., Konoplya N.A., Bushmina O.N., Bystrova N.A., Ovod A.I. (2018) *Biomeditsinskaya Khimiya*, **64**(4), 360-367.]
14. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. (2010) Иммунология, Медицина, Москва, сс. 136-149. [Khaitov R.M., Ignat'eva G.A., Sidorovich I.G. (2010) *Immunologiya, Meditsina*, Moscow, pp. 136-149.]
15. Надеев А.Д., Зинченко В.П., Авдонин П.В., Гончаров Н.В. (2014) Токсикологический вестник, **2**(125), 22-27. [Nadeev A.D., Zinchenko V.P., Avdonin P.V., Goncharov N.V. (2014) *Toksikologicheskiy Vestnik*, **2**(125), 22-27.]
16. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. (2015) Современные проблемы науки и образования, №4, 462-466. [Kuznetsova V.L., Solov'eva A.G. (2015) *Sovremennyye Problemy Nauki i Obrazovaniya*, No.4, 462-466.]
17. Annavarajula S.K., Dakshinamurty K.V., Naidu M.U. (2012) J. Nephrol., **22**(5), 340-346.
18. Лямина Н.П., Карпова Э.С., Котельникова Е.В. (2014) Клиническая медицина, **2**, 23-29. [Lyamina N.P., Karpova E.S., Kotel'nikova E.V. (2014) *Klinicheskaya Meditsina*, **2**, 23-29.]

Поступила в редакцию: 09. 03. 2020.
После доработки: 30. 04. 2020.
Принята к печати: 30. 04. 2020.

RELATIONSHIP BETWEEN METABOLIC AND IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN EXPERIMENTAL ACUTE TETRACHLOROMETHANE, ISCHEMIC AND ALCOHOLIC LIVER DISEASE

E.S. Litvinova¹, A.I. Konoplya¹, I.M. Kholimenko^{2}, V.P. Gavriluk¹, A.G. Kocar²*

¹Kursk State Medical University,
3 K. Marx str., Kursk, 305041 Russia

²Kursk City Clinical Hospital for Emergency Medicine,
14 Pirogova str., Kursk, 305047 Russia; *e-mail: kholimenko@yandex.ru

The aim of this study was to investigate the relationship of metabolic and immunological disorders in acute tetrachloromethane, ischemic and alcoholic liver damage modelled in adult Wistar male rats weighing 120-160 g. After evaluation of metabolic and immunological parameters at the local and systemic levels, and correlation analysis was used to establish the relationship between the dynamics of the indicators against the background of experimental pathology models. The close correlation between the studied immune and metabolic parameters recognized for the tetrachloromethane, ischemic and alcoholic liver damage shows the existing "tension" between the indicators of immune and metabolic status. Such close correlation between the studied immunological and metabolic parameters at the system and local levels can serve to assess the severity of the disease, its prognosis, treatment effectiveness and preventive measures.

Key words: experimental damage to the liver; immune and metabolic disorders; correlation

Funding. This work was carried out by Kursk State Medical University budget.

Received: 09.03.2020; revised: 30.04.2020; accepted 30.04.2020.