

УДК 615.099:616-008:615.917:661.722:547.222

DOI: 10.36946/0869-7922-2021-1-27-37.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ АЛЛОГЕННЫМИ ГЕПАТОЦИТАМИ ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ, ИШЕМИЧЕСКОМ И АЛКОГОЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Е.С. Литвинова¹,
А.И. Конопля¹,
И.М. Холименко², А.Г. Коцарь²

¹Курский государственный
медицинский университет (КГМУ),
305041, Курская область, г. Курск,
Российская Федерация

²Курская городская клиническая
больница скорой медицинской помощи
(КГКБ СМП), 305047, Курская область,
г. Курск, Российская Федерация

Иммунные нарушения, возникающие при поражении печени различного генеза, и механизмы их развития остаются все еще мало изученными. Функции иммунной системы осуществляются на фоне метаболических процессов и их сдвигов, вызываемых действием на организм различных агентов, а также клеток печени - гепатоцитов. Типовые метаболические сдвиги, возникающие при поражении печени различными опасными факторами сочетаются и с определенными особенностями нарушений метаболизма в тех или иных органах и тканях, обусловленными спецификой их структурно-функциональной организации, природой индуцирующего агента и первичным звеном его воздействия на клетки и организм в целом. Взаимосвязь многочисленных метаболических сдвигов, нарушений функциональной активности гепатоцитов, возникающих при такой патологии с дисфункцией иммунной системы до настоящего времени изучена недостаточно, так же как не установлены наиболее эффективные способы коррекции. В настоящее время вопросы патогенеза, диагностики и лечения острых заболеваний печени остаются одними из актуальных в медицине как ввиду сложности диагностики и выбора оптимальных методов лечения, так и вследствие тенденции к росту количества больных этими заболеваниями. Появление и развитие клеточных технологий создали серьезные научные предпосылки в этой области.

Ключевые слова: корреляционные взаимосвязи, поражение печени, иммунные и метаболические нарушения.

Цит: Е.С. Литвинова, А.И. Конопля, И.М. Холименко, А.Г. Коцарь. Взаимосвязь метаболических и иммунологических показателей после коррекции аллогенными гепатоцитами при остром токсическом, ишемическом и алкогольном поражении печени. Токсикологический вестник. 2021; 1:27-37.

Введение. Учитывая важную роль печени в регуляции гомеостаза и постоянный рост ее заболеваемости, обусловленный химизацией производства, быта и медицины, а также алкоголизмом, выявление оптимальных условий усиления регенерации печени является особенно актуальным, а коррекция нарушений, связанных с па-

тологией печени является одной из важнейших медицинских и социальных проблем не только в нашей стране, но и во всех развитых и развивающихся. Функциональная активность этого органа существенно влияет на состояние иммунной и эндокринной функций, через которые осуществляется регуляция регенерации печени [1].

Литвинова Екатерина Сергеевна (Litvinova Ekaterina Sergeevna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии Курского государственного медицинского университета, kat_goma@mail.ru;

Конопля Александр Иванович (Kopolya Aleksandr Ivanovich), доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой биологической химии Курского государственного медицинского университета, kopolya51@mail.ru;

Холименко Иван Михайлович (Kholimenko Ivan Mikhailovich), кандидат медицинских наук, ОБУЗ Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи, врач-уролог, kholimenko@yandex.ru;

Коцарь Александр Геннадьевич (Kotsar' Aleksandr Gennad'evich), доктор медицинских наук, ОБУЗ Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи, врач уролог, litoklast@mail.ru.

В литературе имеется большое количество работ, посвященных коррекции нарушений функций печени, в том числе с использованием клеточных технологий, есть единичные исследования по эритроцитарным нарушениям и их коррекции при патологии печени, и фактически отсутствуют работы по корригирующему влиянию на метаболическую активность эритроцитов трансплантации аллогенных клеток и их культуральных гуморальных факторов [2].

Гепатоциты стали первым типом клеток, использованных для клинических целей – клеточной терапии больных с врожденной и приобретенной патологией печени. По сравнению с клетками-предшественниками и стволовыми клеткам, культуры гепатоцитов обладают очень ограниченной способностью к делению, что является серьезным лимитирующим фактором для их практического использования, но в стрессовых условиях (в том числе и при острых поражениях печени) они впадают в состояние гиперплазии и приобретают способность к активному размножению. Данное свойство гепатоцитов легло в основу их использования для восстановительных процессов при заболеваниях печени [3].

Эффективность замещения клеточных дефектов печени при врожденных и приобретенных заболеваниях, способность стимулировать собственную регенерацию органа, отсутствие опасностей возникновения фиброзов зависят главным образом от используемых клеток. В ряде исследований показано, что при определенных условиях культивирования клетки различного типа способны экспрессировать специфичные для гепатоцитов маркеры. Однако истинная функциональность тех или иных клеток остается недоказанной, поэтому актуальными являются исследования по изучению метаболической активности аллогенных трансплантатов [4].

Взаимосвязи многочисленных метаболических и иммунологических сдвигов и нарушений функциональной активности гепатоцитов, возникающих при различной патологии печени, с функцией дестабилизации иммунной системы до настоящего времени изучена недостаточно, так же как не установлены наиболее эффективные способы фармакологической коррекции [5].

Исходя из этого, целью исследования стало установление взаимосвязей между показателями метаболического и иммунного статусов при поражении печени различными патогенными факторами после коррекции аллогенными гепатоцитами.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на 96 крысах-самцах Вистар массой 100-160 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского уни-

верситета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 часов, с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам надлежащей лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016).

Острую интоксикацию тетраметаном (ЧХУ) у лабораторных животных проводили путем внутримышечного его введения в дозе 3 мл/кг в виде 50% раствора в оливковом масле пятикратно с интервалом 24 ч [6].

Острое ишемическое поражение печени (ОИПП) моделировали оперативным методом. Для этого применялся один гексеналовый внутрибрюшинный наркоз для каждой особи в дозе 30 мг/кг веса. Для операционного доступа была выбрана верхнесрединная лапаротомия. Пережатием *lig. hepatoduodenale* турникетом на протяжении 20 минут вызывали ишемическое повреждение печени. Инфильтрацию *lig. hepatoduodenale* производили 0,5 мл 0,5 % раствора новокаина, выполнялось до пережатия. 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 [7].

Алкогольную интоксикацию моделировали принудительным внутрижелудочным введением 20% раствора этанола в дозе 2 мл/кг (2,92 г/кг) через 24 часа в течение 60 дней [8].

У экспериментальных животных взятие крови на исследование производилось под наркозом, методом внутрисердечной инъекции. Методом центрифугирования в течение 5 минут при 400g. плазму и эритроциты получали из гепаринизированной крови.

Оценка иммунологической реактивности основывалась на показателях гуморального иммунного ответа (ГИО) (количество антителообразующих клеток – АОК) и гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) (разнице масс регионарного и контралатерального лимфатических узлов – РМ и по разнице количества в них кариоцитов – РК) [9].

С помощью специализированного «ТБК-Агат» («Агат-Мед» Россия) отечественного коммерческого набора, и использовании спектрофотометра «Апель-330» (Япония) при определенной длине волны 535 нм и 570 нм выполняли оценку и изучение интенсивности процессов липопероксидации. Эти процессы определяли по содержанию в эритроцитах и плазме крови двух показателей, а именно малонового диальдегида (МДА) и ацилгидроперекисей (АГП). Оценка состояния анти-

оксидантной системы организма производили методом твердофазного прямого/конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) с детекцией продуктов реакции в диапазоне длины волны 405-630 с применением коммерческих наборов. Методом основанном на способности ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА оценивали общую антиокислительную активность (ОАА) и активность супероксиддисмутазы (СОД) фирма «Bender Medsystems» (Австрия). Двумя аналитическими операциями определяли уровень стабильных метаболитов оксида азота (SM_{ON}): измерение эндогенного нитрита и превращение нитрата в нитрит с использованием нитрит-редуктазы с последующим определением общего нитрита по абсорбции азокрасителя в реакции Грисса при длине волны 540 нм с использованием коммерческого набора для твердофазного ИФА «R&D» (Англия). Учет и регистрация результатов ИФ анализа производился строго при помощи одного автоматического ридера для ИФ анализа отечественной фирмы Эфос 9305 (Россия) [10].

На градиенте плотности фикоколл-урографиона ($p=1,078$) осуществляли получение нейтрофилов из взятой крови. В периферической крови оценивалась фагоцитарная нейтрофильная активность, делалось это по фагоцитарному числу, фагоцитарному показателю, индексу 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, коэффициентам опсонизации, активации на неопсонизированный и опсонизированный зимозан (КО, КАн, КАо) [11].

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

Выделение аллогенных гепатоцитов (АГ) от животных через 5-6 дней после рождения производилась по методике M.N. Berry, D.S. Friend, для чего после забора печени ее измельчали, гепатоциты из ткани извлекали выдавливанием с помощью стеклянного гомогенизатора в среде 199. Полученную клеточную взвесь дважды отмывали путем центрифугирования в течение 10 мин при 400 g, разбавляли в среде 199 и подсчитывали количество клеток. Их жизнеспособность определяли в тесте с трипановым синим, при этом в дальнейших опытах использовали клеточные суспензии, содержащие более 90% жизнеспособных клеток. После концентрации путем центрифугирования пул суспензии клеток от 2-3 крыс в концентрации 2×10^6 /кг сразу же вводили внутрибрюшинно, десятикратно, через 24 часа, в объеме

0,5 мл в среде 199. В течение всех манипуляций с клеточной взвесью температура использованной среды 199 составляла 36-37°C.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Существенность различий оценивали по U-критерию. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Принудительное поступление этанола привело к развитию процессов ПОЛ (повышение концентрации МДА и АГП), снижению факторов антиоксидантной защиты (снижение ОАА и активности каталазы, СОД). Кроме этого, выявлено снижение уровня SM_{NO} . Введение АГ нормализовало ОАА, корригировало содержание продуктов ПОЛ и активность ферментов антиоксидантной защиты, нормализовало активность каталазы, приближало к параметрам нормы концентрацию МДГ, АГП и SM_{NO} . При оценке показателей функциональной активности эритроцитов циркулирующей крови при алкогольной интоксикации установлено повышение продуктов ПОЛ (МДА, АГП), снижение активности ферментов антиоксидантной защиты (СОД, каталаза), SM_{NO} и сорбционных свойств мембраны красных клеток крови (ССЭ, СЭГ). Применение АГ нормализовало сорбционную емкость гликокаликса, приводило к нормальным цифрам уровень МДА, SM_{NO} , каталазу, корригировало АГП и сорбционную способность эритроцитов. 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). Использование АГ нормализовало ФЧ, ФРН, корригировало в сторону контроля ФП и ИАФ. Дополнительно к сказанному выше доставка АГ стабилизировала НСТ-ст. и корригировала НСТ-сп.

Острое ишемическое поражение печени также вызывало рост уровня продуктов перекисного окисления липидов, в частности это были МДА и АГП, с одновременным повышением активности каталазы. Полученные результаты свидетельствуют о выраженных изменениях иммунной реактивности и функциональной активности полиморфно-ядерных лейкоцитов и в условиях ишемического поражения печени. Применение аллогенных гепатоцитов позволило у животных в условиях ИПП нормализовать ФЧ полиморфно-ядерных лейкоцитов и их кислородзависимую активность, корригировать, но не до уровня нор-

мы, количество АОК и ФИ нейтрофилов периферической крови.

При оценке оксидантных показателей плазмы крови экспериментальных животных с ОТПП установлена активация процессов ПОЛ (повышение уровня МДА и АГП), снижение показателей антиоксидантной защиты (ОАА, активность СОД и Кат) и содержания SM_{NO} . Дополнительно зафиксировано повышение всех изученных показателей функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови, а именно, кислород-зависимой (повышение НСТ-сп., НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з, КАН, КАо, КО) и фагоцитарной активности (повышение ФИ, ФЧ и ИФА). Введение АГ корригирует метаболические показатели плазмы крови (исключение концентрация МДА), в эритроцитах нормализует содержание ОАА, АГП и корригирует СЕГ и активность антиоксидантных ферментов (СОД и каталаза).

Патогенез выявленных нарушений можно объяснить, основываясь на представлении взаимообусловленности разных звеньев поддерживающих постоянство внутренней среды организма. Для этого нами проведен анализ матрицы множественной корреляции между составляющими метаболического и иммунологического статусов, результаты которого представлены в табли-

цах. А также выполнен корреляционный анализ между показателями метаболического статуса на местном и системном уровне при остром тетраметановым, ишемическом и алкогольном поражении печени после проведенной терапии аллогенными гепатоцитами.

С помощью корреляционного анализа осуществляли определение наличия достоверных связей в зависимости от группы пациентов 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 ишемическом поражении печени на системном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами нами установлено 9 достоверных сильных прямых и обратных корреляционных связей. При этом динамика МДА и СОД связана с изменениями двух показателей иммунного статуса: МДА с РМ и ФП, а СОД с КАо и ФЧ. Больше всего сильных связей выявлено между каталазой и показателями иммунного статуса АОК, НСТ-сп., НСТ-ст. о/з и КАН. (табл. 1).

Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при острой ишемии

Таблица 1

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при ишемическом поражении печени на системном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	МДА	АГП	ОАА	СОД	Кат	SM_{ON}	Сумма
АОК	-0,44	0,10	0,02	-0,25	0,89	0,28	1
РМ	0,61	-0,3	-0,17	0,3	0,06	-0,18	1
РК	-0,07	0,28	-0,21	-0,3	-0,17	-0,5	-
ФП	-0,53	0,29	-0,18	-0,39	0,25	0,18	1
ФЧ	0,44	-0,19	-0,02	0,78	0,12	0,39	1
ИАФ	0,10	-0,64	-0,48	0,13	-0,26	-0,16	1
НСТ-сп.	-0,28	0,37	0,16	-0,02	0,6	0,19	1
НСТ-ст. н/з	0,41	-0,2	-0,22	0,29	-0,01	-0,22	-
НСТ-ст. о/з	0,15	0,22	-0,08	0,26	0,6	-0,16	1
КАН	0,11	-0,34	-0,13	0,26	0,6	0,08	1
КАо	0,09	0,06	0,52	0,70	0,3	0,37	1
КО	0,27	0,16	0,07	0,38	-0,19	0,26	-
Сумма	2	1	-	2	4	-	9

печени после коррекции аллогенными гепатоцитами на местном уровне установлено 12 достоверных сильных корреляционных связей. При этом наибольшее количество взаимосвязей выявлено между АОК и следующими показателями метаболического статуса: МДА, ОАА, СОД, каталаза и СЕЭ. Сам же показатель СЕЭ коррелировал с тремя показателями иммунного статуса: АОК, НСТ-сп, КО. Остальные показатели имели по одной – две сильных взаимосвязи (табл. 2).

Сравнивая показатели, полученные при составлении матрицы Спирмена, между значениями метаболического статуса на системном и местном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами, также выявлен ряд взаимосвязей. Установлено 6 корреляционных связей, 2 связи для местного уровня каталазы (ОАА, СЕЭ), 2 связи для местного уровня $СМ_{ON}$ (СОД, каталаза). По одной взаимосвязи на местном уровне у МДА с ОАА и ОАА с СЕГ (табл. 3).

Далее также нами был проведен аналогичный корреляционный анализ, но при токсическом поражении печени после коррекции аллогенными гепатоцитами. Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между показателями

метаболического и иммунного статусов при токсическом поражении печени на системном уровне нами установлено 7 достоверных сильных прямых и обратных корреляционных связей. При этом по 2 связи для показателя каталазы (АОК, НСТ-ст. н/з), ОАА (КАн, КО), РК (МДА, СОД), КАн (ОАА, $СМ_{ON}$). Наиболее сильная прямая связь отмечена между КАн и $СМ_{ON}$ (табл. 4).

Анализируя матрицу множественной корреляции Спирмена между изучаемыми показателями на местном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами установлены 12 достоверных связей, при этом динамика метаболических показателей МДА и АГП связана с 3 различными показателями иммунного статуса, а уровень СЕГ с двумя показателями (АОК, ИАФ). Показатель иммунного статуса АОК также был связан прямой и обратной связью с показателями метаболического статуса (МДА, СОД СЕГ) (табл. 5).

Сравнивая показатели, полученные при составлении матрицы Спирмена, между значениями метаболического статуса на системном и местном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами, также выявлено 6 достоверных корреляций. Каталаза на системном уровне была вза-

Таблица 2

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при острой ишемии печени на местном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	МДА	АГП	ОАА	СОД	Каталаза	СЕЭ	СЕГ	Сумма
АОК	-0,6	0,36	0,9	0,6	0,6	0,81	-0,05	5
РМ	0,7	0,03	-0,32	-0,22	-0,15	-0,16	-0,12	1
РК	-0,26	-0,04	-0,06	-0,53	-0,6	0,09	0,5	1
ФП	-0,44	0,07	0,42	-0,05	-0,08	0,18	0,23	-
ФЧ	0,23	-0,23	-0,01	0,25	0,25	-0,02	-0,02	-
ИАФ	-0,11	0,07	0,001	0,07	0,05	-0,03	0,20	-
НСТ-сп.	-0,18	-0,41	0,72	0,25	0,23	0,86	0,06	2
НСТ-ст. н/з	0,11	-0,6	0,11	-0,17	-0,17	0,39	0,4	1
НСТ-ст. о/з	-0,1	0,31	0,12	0,14	0,13	0,26	0,01	-
КАн	-0,1	0,2	0,45	0,23	0,25	0,40	-0,03	-
КАо	0,35	-0,24	0,08	0,5	0,49	0,14	-0,63	1
КО	0,45	-0,21	-0,45	-0,34	-0,34	-0,6	-0,05	1
Сумма	2	1	2	1	2	3	1	12

Таблица 3

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического статуса на местном и системном уровне при острой ишемии печени после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	Местный уровень						
	МДА	АГП	ОАА	СОД	Кат	СМ _{ОН}	Сумма
Системный уровень							
МДА	0,28	-0,14	-0,07	0,33	-0,21	0,04	-
АГП	-0,22	-0,13	-0,35	-0,43	0,32	-0,30	-
ОАА	-0,6	0,12	0,13	-0,18	0,81	0,39	2
СОД	-0,38	-0,15	0,44	0,17	0,48	0,6	1
Каталаза	-0,35	-0,2	0,44	0,15	0,48	0,6	1
СЕЭ	-0,39	0,22	0,22	-0,01	0,78	0,15	1
СЕГ	0,42	-0,01	-0,6	-0,08	-0,20	-0,27	1
Сумма	1	-	1	-	2	2	6

Таблица 4

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при токсическом поражении печени на системном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	МДА	АГП	ОАА	СОД	Кат	СМ _{ОН}	Сумма
АОК	0,02	0,2	0,13	-0,04	-0,6	0,1	1
РМ	0,18	0,18	-0,18	-0,3	0,06	0,07	-
РК	0,6	0,37	0,03	-0,6	-0,07	-0,02	2
ФП	0,06	0,07	0,01	0,02	-0,43	0,10	-
ФЧ	-0,17	0,32	0,17	-0,3	0,02	0,17	-
ИАФ	0,33	-0,38	0,02	-0,1	-0,03	0,1	-
НСТ-сп.	0,28	0,36	-0,25	-0,27	-0,32	-0,05	-
НСТ-ст. н/з	0,01	-0,1	0,07	-0,47	-0,6	0,2	1
НСТ-ст. о/з	0,30	-0,27	-0,1	-0,04	-0,41	0,03	-
КАн	0,01	-0,31	0,70	-0,1	0,12	-0,82	2
КАо	-0,03	0,05	-0,12	0,02	-0,44	0,3	-
КО	-0,32	-0,4	-0,6	-0,06	-0,03	-0,01	1
Сумма	1	-	2	1	2	1	7

Таблица 5

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при токсическом поражении печени на местном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	Кол-во	Нб	МДА	АГП	ОАА	СОД	Кат	СЭЭ	СЕГ	Сумма
АОК	-0,02	0,33	-0,79	-0,16	0,03	0,6	0,06	-0,45	0,6	3
РМ	-0,18	-0,34	0,35	-0,02	-0,07	0,39	-0,24	0,3	-0,19	-
РК	0,32	0,2	0,10	0,6	-0,2	0,25	-0,81	0,3	0,25	2
ФП	0,22	0,01	-0,1	0,6	-0,25	-0,08	-0,28	-0,15	-0,09	1
ФЧ	-0,25	0,06	0,43	0,87	-0,08	-0,13	-0,27	0,12	-0,27	1
ИАФ	0,44	0,18	-0,62	-0,21	0,17	0,01	-0,3	-0,25	0,61	2
НСТ-сп.	-0,47	0,01	-0,005	-0,47	0,2	0,35	0,3	0,32	-0,2	-
НСТ-ст. н/з	-0,07	0,34	-0,6	0,15	0,03	0,27	-0,14	0,06	0,45	1
НСТ-ст. о/з	0,22	-0,31	-0,47	0,05	-0,03	-0,11	-0,14	-0,09	0,14	-
КАн	0,23	0,25	-0,13	-0,22	0,44	-0,07	0,01	0,37	-0,13	-
КАо	-0,6	-0,25	-0,09	-0,22	-0,12	0,03	0,45	0,09	-0,38	1
КО	0,12	-0,6	0,27	-0,34	0,24	0,10	0,19	0,13	0,06	1
Сумма	1	1	3	3	-	1	1	-	2	12

имосвязана с 2 показателями на местном уровне: положительной сильной связью с концентрацией СОД и отрицательной сильной связью с МДА. Напротив же показатель местного метаболического статуса СОД, достоверно был связан с тремя показателями системного метаболического статуса (Каталаза, СОД, СЭЭ). Другие выявленные взаимосвязи были между единичными показателями (табл. 6).

Последним нами был проведен аналогичный корреляционный анализ, однако, изучались взаимосвязи, полученные при интоксикации этанолом после коррекции аллогенными гепатоцитами. При оценке матрицы множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического статуса на местном и системном уровне при интоксикации этанолом выявлено определено 6 достоверных корреляций. Так, динамика уровня АГП и $СМ_{ON}$ на местном уровне связана с изменениями 3 и 2, соответственно, показателей метаболического статуса на системном уровне, а концентрации показателей системного уровня АГП и ОАА коррелируют с 2 показателями местного уровня (табл. 7).

При оценке матрицы множественной корреляции Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при алко-

гольной интоксикации печени на системном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами выявлено 13 достоверных корреляций. Так, динамика уровня МДА была связана с тремя показателями ФЧ, НСТ-сп, НСТ-сп н/з. Динамика ОАА и $СМ_{ON}$ коррелирует с двумя показателями НСТ-сп, НСТ-сп н/з. СОД достоверно взаимодействовала с тремя показателями иммунного статуса – АОК, ФЧ, НСТ-сп н/з. Каталаза коррелировала с АОК и НСТ-сп о/з. (табл. 8).

Описывая множественные корреляции выявленные между показателями метаболического и иммунного статусов при алкогольной интоксикации печени на местном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами нами установлены 15 достоверных прямых и обратных взаимосвязей. АГП достоверно коррелировали с 6 показателями (АОК, РК, ФП, НСТ-сп, НСТ-сп н/з). СОД коррелировала с двумя показателями (РМ и ФП). $СМ_{ON}$ были в тесной корреляции с ИАФ и Кан. СЭЭ взаимодействовала с РК НСТ-сп. Показатель СЕГ коррелировал с тремя показателями РМ, НСТ-сп н/з, КО (табл. 9).

Специализированные клетки печени (гепатоциты) стали одним из первых типом клеток, использованных для клинических целей – клеточной

Таблица 6

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического статуса на местном и системном уровне при токсическом поражении печени после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	Местный уровень						
	МДА	АГП	ОАА	СОД	Кат	СМОН	Сумма
Системный уровень							
Нб	0,21	0,34	0,64	-0,17	0,053	-0,2	1
МДА	-0,33	0,06	-0,28	0,1	0,33	0,23	-
АГП	0,1	0,38	0,03	-0,28	0,1	0,34	-
ОАА	0,06	-0,3	0,35	-0,2	-0,1	-0,73	1
СОД	0,22	0,43	0,05	-0,6	-0,36	-0,02	1
Каталаза	-0,68	-0,34	-0,15	0,6	-0,17	-0,03	2
СЕЭ	0,12	-0,05	0,04	-0,64	-0,33	-0,21	1
СЕГ	0,23	0,11	-0,07	-0,13	0,02	0,16	-
Сумма	1	-	1	3	-	1	6

Таблица 7

Матрица множественных корреляций Спирмена между показателями метаболического статуса на местном и системном уровне при интоксикации этанолом после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	Местный уровень							
	МДА	АГП	СОД	Каталаза	СМОН	ССЭ	СЕГ	Сумма
Системный уровень								
МДА	0,13	0,6	0,07	-0,18	-0,21	-0,2	-0,4	1
АГП	-0,23	-0,4	-0,6	0,12	-0,6	-0,02	-0,1	2
ОАА	0,04	0,62	-0,16	0,01	-0,6	-0,4	-0,4	2
СОД	0,11	0,7	-0,06	-0,22	-0,07	-0,41	-0,36	1
Кат	-0,02	0,43	-0,24	-0,32	0,13	-0,31	-0,23	-
СМОН	-0,21	-0,05	-0,28	-0,34	0,22	0,1	0,06	-
Сумма	-	3	1	-	2	-	-	6

терапии больных с врожденными и приобретенными дефектами печени. Интерес к ним с научной и практической стороны в настоящее время усилился в еще большей степени в связи с тем, что единственным способом лечения недостаточности печени, как исхода вирусных, аутоиммунных гепатитов, наследственных заболеваний и интоксикаций, является недостаток донорских органов. По сравнению с клетками-предшественниками и стволовыми клетками, культуры первичных гепатоцитов обладают очень огра-

ниченной способностью к делению, что является серьезным лимитирующим фактором для их практического использования. Эффективность трансплантации гепатоцитов существенно ограничивается в результате развития нарушений иммунного гомеостаза [11].

Также механизм действия гепатоцитов, применяемых для коррекции поврежденной ткани печени нельзя считать окончательно выясненным. Ряд авторов полагают, что лечебный эффект связан с органозамещающей функцией. В насто-

Таблица 8

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при этаноловой интоксикации печени на системном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	АОК	РМ	РК	ФП	ФЧ	ИАФ	НСТ-сп	НСТ-сп н/з	НСТ-сп о/з	Кан	КАо	КО	Сумма
МДА	0,25	0,3	-0,2	-0,43	0,62	0,15	0,71	0,73	-0,3	0,03	-0,5	0,5	3
АГП	-0,3	-0,2	-0,1	-0,01	0,13	-0,23	-0,26	-0,4	-0,2	-0,4	-0,1	0,1	-
ОАА	0,16	0,1	0,4	-0,4	0,45	-0,04	0,63	0,85	-0,3	-0,4	-0,1	0,1	2
СОД	0,66	0,2	0,32	-0,45	0,64	0,02	0,41	0,79	-0,5	-0,2	-0,6	0,2	4
Кат	0,72	0,1	0,18	-0,12	0,34	0,12	-0,1	0,23	-0,6	-0,2	-0,4	0,4	2
СМОН	0,4	-0,1	-0,1	0,2	-0,2	-0,18	-0,66	0,65	-0,1	-0,3	-0,4	0,2	2
Сумма	2	-	-	-	2	-	3	4	1	-	1	-	13

Таблица 9

Матрица множественных корреляция Спирмена между показателями метаболического и иммунного статусов при этаноловой интоксикации печени на местном уровне после коррекции аллогенными гепатоцитами

Показатели	АОК	РМ	РК	ФП	ФЧ	ИАФ	НСТ-сп	НСТ-сп н/з	НСТ-сп о/з	Кан	КАо	КО	Сумма
МДА	0,34	0,14	-0,3	0,2	0,3	0,32	-0,25	0,27	-0,03	0,2	-0,2	0,14	-
АГП	0,62	-0,2	0,63	-0,7	0,3	-0,16	0,68	0,62	-0,65	-0,1	-0,1	0,11	6
СОД	0,05	0,68	-0,4	0,7	-0,2	0,31	-0,16	0,1	0,43	0,3	-0,1	-0,3	2
Ката лаза	-0,25	-0,4	-0,2	-0,2	-0,1	0,05	-0,02	0,13	-0,08	0,1	0,14	0,41	-
СМОН	0,37	0,04	0,1	0,4	-0,2	0,6	-0,4	-0,4	-0,03	0,6	-0,1	0,04	2
ССЭ	0,08	-0,4	-0,6	0,1	-0,1	0,04	-0,6	-0,22	0,17	0,1	0,02	0,42	2
СЕГ	0,07	-0,6	-0,1	0,1	0,1	0,4	-0,4	-0,6	0,01	0,4	0,01	0,6	3
Сумма	1	2	2	2		1	2	2	1	1	-	1	15

ящее время доказано, что трансплантированные изолированные стволовые клетки, гепатоциты не столько увеличивают функциональную массу печени, сколько изменяют гуморальные и молекулярные механизмы, отвечающие за активацию функции оставшихся гепатоцитов реципиента и регенерацию, путем выработки низкомолекулярных гуморальных факторов [12,13].

Полученные нами данные позволяют заключить, что выявленная активация свободно-радикального окисления, является фактором патогенеза многих заболеваний. Данные полученные в работе свидетельствуют о выраженных измене-

ниях иммунной реактивности и функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов в условиях ишемического, токсического и алкогольного поражения печени, а также возможности использования аллогенных гепатоцитов в коррекции выявленных иммунометаболических нарушений. Следует отметить, что применение аллогенных гепатоцитов в большей степени оказывает нормализующее и корригирующее влияние на показатели иммунной реактивности и функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов.

Эффекты и механизмы действия транспланти-

руемых аллогенных гепатоцитов, выявляемые при их введении связаны не столько с их органозамещающей функцией, сколько с нормализацией и активацией аутологичных клеток печени через гуморальные соединения (пептидов, факторов роста, цитокинов и др.), изменяющих количественно и качественно состав сыворотки циркулирующей крови и через это содержание и соотношение белков и липидов мембраны эритроцитов [13,14].

Наряду с этим требуют своего дальнейшего исследования механизмы метаболической коррекции имплантированных гепатоцитов. Перспективным является выделение из культуральной жидкости гепатоцитов «действующего» начала. Одним из оснований для этого являются полученные ранее в нашей лаборатории факты о том, что не только трансплантация аллогенных интактных гепатоцитов, но и введение полученной на их основе культуральной жидкости, реципиентам с экспериментальной гипоксией печени, острым токсическим гепатитом, вызванным четыреххлористым углеродом, значительно снижают развитие в печени иммуновоспалительного синдрома, нормализуют синтетическую функцию гепатоцитов, предотвращают развитие окислительного стресса

и нарушения врожденного иммунитета [15].

Для более широкого внедрения заместительной клеточной терапии в клиническую практику необходимы дальнейшие экспериментальные исследования, направленные на определение иммунометаболических эффектов различных вариантов регенеративной клеточной терапии (использование ксено- и аллогенных трансплантатов и их культуральной жидкости), а также их сочетанное применение с фармакологическими препаратами при патологии печени [6].

Выводы.

1. Корреляционный анализ между показателем иммунного статуса и окислительного стресса, доказывает наличие взаимосвязи и взаимозависимости в генезе патологических изменений происходящих в печени, что может служить оценкой степени тяжести и эффективности проводимого лечения.

2. Применение аллогенных гепатоцитов оказывает выраженное положительное влияние на показатели иммунометаболического статуса при остром ишемическом, токсическом и алкогольном поражении печени, что в свою очередь может быть использовано при терапии данных нарушений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Медведева С.Ю., Мухлынина Е.А., Булавинцева Т.С., Данилова И.Г. Участие фактора стволовой клетки в репаративной регенерации печени при ее токсическом повреждении. Медицинская иммунология. 2015; 17 спец. выпуск: 32.
 2. Жексенова А.Н., Насыров И.Н., Калдыбаева А.Т., Батырова Т.Ж., Альмаханова М.Ж. Морфологическое изменение в лимфоузлах при воспалительном процессе у крыс на фоне воздействия фетальными гепатоцитами. Аллергология и иммунология. 2015; 16 (3): 311.
 3. Лызиков А.Н., Скуратов А.Г., Осипов Б.Б. Механизмы регенерации печени в норме и при патологии. Проблемы здоровья и экологии. 2015; 1 (43): 4-9
 4. Ляндуп А.В., Онищенко Н.А., Шагидулин М.Ю., Крашениников М.Е. Стволовые прогениторные клетки печени и костного мозга как регуляторы восстановительной регенерации поврежденной

печени. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2010; 12 (2):100-107.
 5. Liu K.X., Kato Y., Matsumoto K., Nakamura T., Kaku-T., Sugiyama Y. Characterization of the enhancing effect of protamine on the proliferative activity of hepatocyte growth factor in rat hepatocytes. Pharm Res. 2009; 26 (4): 1012-1021.
 6. Конопля А.И., Литвинова Е.С., Быстрова Н.А., Разумова М.С., Чуева Т.В. Иммунометаболические нарушения при экспериментальном остром токсическом поражении печени: коррекция ксеногенными и аллогенными гепатоцитами. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2016; 18 (2): 91-98.
 7. Литвинова Е.С., Конопля А.И., Дудка В.Т. Эффективность белков аллогенных гепатоцитов в коррекции иммунометаболических нарушений при остром ишемическом поражении печени. Курский научно-практический вестник «Человек

и его здоровье». 2019; 1: 103-113. DOI: 10.21626/vestnik/2019-1/12.
 8. Конопля А.И., Локтионов А.Л., Дудка В.В., Долгарева С.А., Сорокин А.В., Бушмина О.Н. Хроническая интоксикация этанолом: метаболические изменения, коррекция нарушений. Токсикологический вестник. 2015; 134 (5): 25-30.
 9. Мальберг К., Зигль Э. Иммунологические методы. М.: Медицина; 1987.
 10. Холименко И.М., Конопля А.И., Братчиков О.И., Быстрова Н.А., Маврин М.Ю., Шатохин М.Н. Оксидантный стресс при остром серозном и гнойном пиелонефрите. Нефрология. 2017; 21 (1): 87-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.24884/1561-6274-2017-1-87-94>.
 11. Зинкин В.Ю., Годков В.Г. Способ количественной оценки кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека. Клиническая и лабораторная диагностика. 2004; 8: 26-29.

12. Евсеева М.Н., Шептулина А.Ф., Рубцов Ю.П. Перспективы создания аутологичных гепатоцитов для лечения печеночной недостаточности. РЖГГК. 2015; 6: 49-57.
 13. Лелехова С.А., Апарцин К.А., Искра А.И. Роль фактора роста гепатоцитов в регенерации печени. Фундаментальные исследования. 2014; 2: 187-92.
 14. Медведева С.Ю., Мухлынина Е.А., Булавинцева Т.С., Данилова И.Г. Участие фактора стволовой клетки в репаративной регенерации печени при ее токсическом повреждении. Медицинская иммунология. 2015; 17: 32.
 15. Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашениников М.Е. Трансплантация гепатоцитов как метод лечения печеночной недостаточности: экспериментальный и клинический опыт. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2010; XII (4) 53-60.

REFERENCES:

1. Medvedeva S.Yu., Mukhlynina E.A., Bulavintseva T.S., Danilova I.G. Stem cell factor participation in the reparative regeneration of the liver during its toxic damage. Medical Immunology. 2015; 17: 32 (in Russian).
 2. Zheksenova A.N., Nasyrov I.N., Kaldybaeva A.T., Batyrova T.Zh., Almakanova M.Zh. Morphological changes in the lymph nodes in rats under the inflammatory process against the background of exposure to fetal hepatocytes. Allergy and Immunology. 2015; 16(3): 311 (in Russian).

3. Lyzikov A.N., Skuratov A.G., Osipov B.B. Mechanisms of liver regeneration in normal and pathological conditions. Problems of Health and Ecology. 2015; 1 (43): 4-9 (in Russian).
 4. Ljundup A.V., Onishchenko N.A., Shagidulin M.Yu., Krashennikov M.E. Liver and bone marrow stem progenitor cells as regulators of regenerative regeneration of damaged liver. Bulletin of Transplantology and Artificial Organs. 2010; 12(2):100-107 (in Russian).
 5. Liu K.X., Kato Y., Matsumoto K., Nakamura T., Kaku-T., Sugiyama Y.

Characterization of the enhancing effect of protamine on the proliferative activity of hepatocyte growth factor in rat hepatocytes. Pharm Res. 2009; 26(4):1012-1021.
 6. Konoplya A.I., Litvinova E.S., Bystrova N.A., Razumova M.C., Chueva T.V. Immunometabolic disorders in experimental acute toxic liver damage: correction by xenogenic and allogeneic hepatocytes. Bulletin of Transplantology and Artificial Organs. 2016; 18(2) - 91-98. DOI: 10.15825/1995-1191-2016-2-91-98 (in Russian).

7. Litvinova E.S., Konoplya A.I., Dudka V.T. Effectiveness of allogeneic hepatocyte proteins in the correction of immunometabolic disorders in acute ischemic liver damage. Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and Health». 2019; 1: 103-113. DOI: 10.21626/vestnik/2019-1/12 (in Russian).
 8. Konoplya A.I., Loktionov A.L., Dudka V.V., Dolgareva S.A., Sorokin A.V., Bushmina O.N. Chronic ethanol intoxication: metabolic changes, correction of disorders. Toxicological Review. 2015;134 (5): 25-30 (in Russian).

9. Mal'berg K., Siegl E. Immunological methods. M.: Meditsina; 1987 (in Russian).
10. Kholimenko I.M., Konoplya A.I., Bratchikov O.I., Bystrova N.A., Mavrin M.Yu., Shatokhin M.N. Oxidative stress in acute serous and purulent pyelonephritis. *Nephrology*. 2017; 21 (1): 87-94 (in Russian).
11. Zinkin V.Yu., Godkov V.G. Method for quantifying the oxygen-dependent metabolism of human neutrophilic granulocytes. *Clinical and Laboratory Diagnostics*. 2004; 8: 26-29 (in Russian).
12. Evseeva M.N., Sheptulina A.F., Rubtsov Yu.P. Prospects for the creation of autologous hepatocytes for the treatment of liver failure. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, and Coloproctology*. 2015; 6: 49-57 (in Russian).
13. Lepekhova S.A., Aparcin K.A., Iskra A.I. The role of hepatocyte growth factor in liver regeneration. *Basic Research*. 2014; 2: 187-92 (in Russian).
14. Medvedeva S.Yu., Mukhlynina E.A., Bulavintseva T.S., Danilova I.G. Stem cell factor participation in the reparative regeneration of the liver during its toxic damage. *Medical Immunology*. 2015; 17: 32 (in Russian).
15. Shagidullin M.Yu., Onishchenko N.A., Krashennnikov M.E. Hepatocyte transplantation as a method of liver failure treatment: experimental and clinical experience. *Bulletin of Transplantation and Artificial Organs*. 2010; XII (4): 53-60 (in Russian).

E.S. Litvinova¹, A.I. Konoplya¹, I.M. Kholimenko², A.G. Kotsar²

RELATIONSHIP BETWEEN METABOLIC AND IMMUNOLOGICAL INDICATORS AFTER CORRECTION BY ALLOGENIC HEPATOCYTES IN ACUTE TOXIC, ISCHEMIC AND ALCOHOL LIVER INJURY

¹Kursk State Medical University, 305041, Kursk Region, Kursk, Russian Federation

²Kursk City Clinical Hospital for Emergency Medicine, 305047, Kursk Region, Kursk, Russian Federation

Immune disorders arising from liver damage of various origins and the mechanisms of their development are still poorly understood. The functions of the immune system are carried out against the background of metabolic processes and their shifts caused by the action of various agents on the body, as well as liver cells - hepatocytes. Typical metabolic changes that occur when the liver is affected by various toxic factors are combined with certain features of metabolic disorders in certain organs and tissues, due to the specifics of their structural and functional organization, the nature of the inducing agent and the primary link of its effect on cells and the body as a whole. The relationship of numerous metabolic changes, violations of the functional activity of hepatocytes arising in such a pathology with the dysfunction of the immune system has not yet been sufficiently studied, as well as the most effective methods of correction have not been established. Currently, the issues of pathogenesis, diagnosis and treatment of acute liver diseases remain among the most relevant in medicine, both due to the complexity of diagnosis and the choice of optimal treatment methods, and the tendency towards an increase in the number of patients with these diseases. The emergence and development of cellular technologies have created serious scientific prerequisites in this area.

Keywords: *correlation relationships, liver damage, immune and metabolic disorders.*

Quote: E.S. Litvinova, A.I. Konoplya, I.M. Kholimenko, A.G. Kotsar. Relationship between metabolic and immunological indicators after correction by allogenic hepatocytes in acute toxic, ischemic and alcohol liver injury. *Toxicological Review*. 2021; 1:27-37.

Материал поступил в редакцию 21.04.2020 г.

