

УДК: 616.8:612.017.1

## ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА ПРИ АДОПЦИИ АЛЛОГЕННОГО ЛИКВОРА

Каримов Х.Я., Утямышев Р.Г.

*Второй Ташкентский Государственный медицинский институт*

**Проведенными исследованиями продемонстрировано, что адопция ликвора от интактных крыс, не влияет на показатели иммунного статуса крыс с моделью токсического гепатита, предположительно, за счет угнетения пластических процессов, обусловленного печеночной дисфункцией. Напротив, реципиенты ликвора с моделью токсического гепатита подверглись значительному снижению показателей иммунного статуса, вследствие адопции ликвора от крыс с аналогичной моделью, воспроизведенной за 14 дней до адопции, за счет сбоя центральных механизмов поддержания иммунного гомеостаза. Также, продемонстрировано, что адопция ЦСЖ от доноров с моделью гепатита, стимулирует рост показателей активности иммунной системы у изначально интактных крыс, вероятно, за счет адаптационной интенсификации регуляторных импульсов со стороны центра поддержания иммунного гомеостаза.**

Известно, что вирусный гепатит, как и любое другое заболевание, сопровождающееся нарушением синтетической функции печени, является системной патологией, протекающей с поражением многих систем и органов [3]. В этой связи, множество работ посвящено изучению патогенетической картины печеночных патологий и разработке стратегии лечения гепатитов, главным образом вирусных. Для достижения объективных результатов важным является применение адекватной экспериментальной модели гепатопатологического процесса. Имеются указания на то, что модель хронического токсического гепатита является оптимальной для изучения вирусных гепатитов [1]. Моделирование гепатитов способствует познанию их патогенеза, в том числе и с позиции роли центральных иммунорегуляторных влияний на их течение, поскольку статус иммунной системы, безусловно, играет важную роль в исходе заболеваний печени. С другой стороны, нарушение иммунитета при печеночных патологиях представляет интерес ввиду значимости печени в поддержании гомеостаза, в том числе и нейроиммуноэндокринного. Таким образом, перспективными представляются разработки, касающиеся изучения взаимодействия нейроиммунитета и печени.

### **Цель исследования.**

Оценить изменение иммунологических показателей у крыс с хроническим токсическим гепатитом под влиянием адопции аллогенного ликвора, обладающего различной степенью иммунотропной активности.

### **Материал и методы исследования.**

В работе приведены данные, полученные от 32 крыс линии Brown Norway, весом 160-180г.

Оперативное вмешательство осуществлялось под гексеналовым наркозом (доза – 70мг./кг., внутривенно). Для воспроизведения модели хронического токсического гепатита (ХТГ) был использован гелиотрин, вводимый внутривенно в дозе 50 мг/кг массы тела один раз в неделю в течение 35 дней [2]. Адопция цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) в III желудочек мозга проводилась раз в сутки согласно стандартной стереотопографии на аппарате WPI (Berlin, Germany) [6]. Количественное определение показателей иммунного статуса проводили с использованием набора дифференцировочных маркеров (Sandoz Pharma AG, Switzerland). Статистическая обработка результатов проводилась с расчетом критерия Стьюдента, различия считали достоверными при значении  $p \leq 0,05$ .

### **Полученные результаты и их обсуждение.**

В проведенных ранее экспериментах было показано, что крысы Brown Norway (BN) с ХТГ имеют достоверно сниженные показатели иммунного статуса по сравнению с нормальными показателями интактных крыс. Примечательно, что при двукратном (в среднем) снижении количества клеток оцениваемых лейкоцитарных элементов, процентное соотношение показателей иммунограммы не изменялось. Вероятно, число всех типов клеток лейкоцитарного звена уменьшилось за счет генерализованного угнетения метаболической функции печени и последующего подавления центральных звеньев иммунорегуляции, что подтверждается исследованиями отдельных авторов [10]. В этой связи, проведено три серии экспериментов направленных на определение степени вовлеченности иммуокомпетентного микроокружения гипоталамуса в меха-

низмы супрессирования иммунной системы при ХТГ.

Задачей первой экспериментальной группы крыс являлось изучение влияния адопции аллогенного ликвора, полученного от интактных крыс линии Sprague Dawley (SD) на показатели иммунного статуса при ХТГ. Полученные данные свидетельствуют, что ни один из оцениваемых показателей, за исключением общего пула лимфоцитов, каких-либо значимых количествен-

ных изменений не претерпел, количество нейтрофилов, мононуклеаров, В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов, НК-клеток и лейкоцитов в целом незначительно колебалось в ту или иную сторону. Лишь абсолютное число лимфоцитов в периферической крови животных изучаемой группы достоверно возросло на 9% в сравнении с их количеством в крови контрольной группы крыс с ХТГ, но без манипуляций с составом ЦСЖ. (табл.1).

**Таблица 1.** Влияние адопции аллогенного ликвора на иммунный статус крыс с ХТГ

показатели иммунитета ( $\times 10^6/L$ )	крысы с ХТГ (контроль)	ХТГ + адопция интактной ЦСЖ	ХТГ + адопция ЦСЖ от крыс с ХТГ	интактные крысы	крысы без ХТГ + адопция ЦСЖ от крыс с ХТГ
лейкоциты	3130,2 $\pm$ 134,0	3264,9 $\pm$ 126,8	2374,0 $\pm$ 119,1 <sup>ab</sup>	6537,2 $\pm$ 172,0	7387,5 $\pm$ 231,1*
нейтрофилы	2017,4 $\pm$ 31,8	2008,8 $\pm$ 20,6	1603,0 $\pm$ 33,4 <sup>ab</sup>	4144,6 $\pm$ 77,1	4675,6 $\pm$ 74,3*
мононуклеары	62,7 $\pm$ 2,4	62,5 $\pm$ 1,9	49,9 $\pm$ 1,8 <sup>ab</sup>	128,6 $\pm$ 3,0	140,4 $\pm$ 2,9*
лимфоциты	1027,2 $\pm$ 34,6	1117,4 $\pm$ 21,8 <sup>a</sup>	787,0 $\pm$ 38,5 <sup>ab</sup>	1994,0 $\pm$ 51,4	2315,1 $\pm$ 70,0*
В-лимфоциты	189,9 $\pm$ 4,0	199,5 $\pm$ 4,2	151,8 $\pm$ 5,8 <sup>ab</sup>	383,9 $\pm$ 6,8	431,8 $\pm$ 7,9*
Т-лимфоциты	777,2 $\pm$ 46,1	792,9 $\pm$ 18,5	617,9 $\pm$ 34,5 <sup>ab</sup>	1528,3 $\pm$ 69,9	1691,1 $\pm$ 96,2
Т-хелперы	440,0 $\pm$ 26,5	480,8 $\pm$ 27,1	422,3 $\pm$ 18,5	929,1 $\pm$ 39,3	1088,7 $\pm$ 66,0
Т-эффекторы	306,2 $\pm$ 15,7	312,5 $\pm$ 19,0	200,9 $\pm$ 9,0 <sup>ab</sup>	528,3 $\pm$ 23,5	586,8 $\pm$ 38,7
НК-клетки	95,2 $\pm$ 1,7	95,0 $\pm$ 1,3	69,0 $\pm$ 1,9 <sup>ab</sup>	192,5 $\pm$ 4,4	216,4 $\pm$ 8,7*

Примечания: во всех сравниваемых группах n = 8

a – достоверно по отношению к контрольной группе крыс

b – достоверно по отношению к группе крыс с адопцией аллогенной интактной ЦСЖ

\* – достоверно по отношению к группе интактных крыс

Таким образом, исследованиями продемонстрировано, что аллогенная адопция ЦСЖ полученной от интактных крыс, не оказывает значимого влияния на показатели активности иммунной системы крыс с моделью ХТГ. По данным ряда авторов, стимуляция центральных звеньев иммунорегуляции ведет к избирательной модуляции нарушенных звеньев периферической иммунной системы, возвращая супрессированные либо гиперактивированные механизмы реализации иммунных процессов к физиологически нормальным значениям [5]. Казалось бы, внутрижелудочковое введение нормальной ЦСЖ, имеющей физиологичный состав иммунотропных компонентов и обладающей способностью модулировать подавленную активность центра поддержания иммунного гомеостаза, должно ослабить интенсивность иммуносупрессии у крыс с токсическим гепатитом, однако этого не произошло. Отсутствие какого-либо воздействия адопции ЦСЖ на активность иммунитета экспе-

риментальной группы крыс, возможно, обусловлено неспособностью периферической иммунной системы прореагировать на смену вектора центральной эфферентной импульсации (в условиях "искусственной оптимизации" состава ЦСЖ), за счет тотального подавления анаболических (пластических) процессов в организме реципиентов ЦСЖ, имеющих печеночную дисфункцию.

Результаты, полученные во второй серии экспериментов, направленных на изучении роли ликвора полученного от аллогенных крыс-доноров, на которых за 14 дней до забора ЦСЖ была воспроизведена аналогичная модель ХТГ, демонстрируют, что животные изучаемой группы с ХТГ (реципиенты ЦСЖ) подверглись значительному снижению показателей иммунного статуса, вследствие адопции ликвора. Так, количество лейкоцитов в изучаемой группе было достоверно снижено в сравнении с контрольной группой крыс с ХТГ (без адопции ЦСЖ) и в сравнении с группой крыс (первой эксперимен-

тальной серии) с ХТГ и с адопцией ЦСЖ от интактных животных линии SD. Аналогичные изменения были характерны и в отношении нейтрофилов и клеток мононуклеарного ряда. Общий пул лимфоцитов, включая Т- и В-популяции и натуральные киллеры, также подвергся значительному снижению числа клеток в периферической крови. Анализ показателей иммунограммы позволяет предполагать, что адопция аллогенной ЦСЖ в гипоталамическое ликворное микроокружение крыс реципиентов ЦСЖ ведет к угнетению активности иммуноцитов периферической крови за счет сбоя центральных механизмов поддержания иммунного гомеостаза. Указанное подавление иммунитета крыс реципиентов ликвора, полученного от особей с моделью патологии усугубленной с течением времени, возможно, обусловлено замещением собственного ликвора, донорским ликвором, с составом биоактивных субстанций (главным образом цитокинов) истощенным моделью токсического гепатита более прогрессирующего у крыс доноров ЦСЖ. Таким образом, адопция "декомпенсированного" ликвора от крыс с прогрессирующей с течением времени моделью токсического гепатита индуцирует ускорение повреждения функций периферической иммунной системы реципиентов ЦСЖ, за счет экспериментально спровоцированной дезрегуляции механизмов поддержания иммунного гомеостаза в гипоталамусе, как результат адопции "декомпенсированного" (истощенного) ликвора. С другой стороны, возможен и иной механизм снижения активности периферической иммунной системы. По утверждению ряда авторов, угнетение периферических иммунных процессов может являться результатом компенсаторного действия центральных иммунотропных импульсов, направленных на предотвращение цитокиновой гиперсекреции в условиях патологии [4;9].

В третьей серии экспериментов оценивалось влияние адопции аллогенной ЦСЖ от крыс с моделью ХТГ на состояние иммунной системы изначально интактных крыс. Анализ полученных данных позволяет судить о том, что аллогенная адопция ЦСЖ от крыс с моделью патологии ведет к повышению показателей иммунограммы у крыс реципиентов ЦСЖ. В частности, общее количество лейкоцитов повысилось на 13% в сравнении с тем же показателем у интактных крыс. Число нейтрофилов, клеток мононуклеарного ряда и общий пул лимфоцитов также статистически значимо возросли. Среди клеток лимфоцитарного ряда достоверное увеличение клеточности имело место среди В-популяции лимфоцитов и натуральных киллеров. В то же время, общее число Т-лимфоцитов и, в частности, их хелпер-

ная и эффекторная субпопуляции не проявили значимого увеличения, однако тенденция к повышению числа клеток наблюдалась для обеих оцениваемых субпопуляций Т-клеток. Таким образом, показано, что центральное введение ЦСЖ, полученной от доноров с моделью гепатита, стимулирует рост показателей активности периферической иммунной системы. Возможным механизмом действия адоптированной ЦСЖ является адаптационное усиление интенсивности иммунорегуляторных импульсов со стороны центра поддержания иммунного гомеостаза в гипоталамусе. Указанная интенсификация иммуностимулирующих гипоталамических импульсов, возможно, обусловлена составом адоптированной ЦСЖ, свидетельствующим о глубоком подавлении активности периферической иммунной системы, вызванном моделью токсического гепатита в организме донора ЦСЖ. Вероятно, обедненный цитокиновый состав адоптированной ЦСЖ индуцирует компенсаторное повышение концентрации цитокинов в ЦСЖ и, следовательно, периферической крови реципиентов ликвора, т.е. происходит активация иммунной системы экспериментальной группы крыс без ХТГ, обусловленная искусственно спровоцированной ложной афферентной сигнализацией в центр поддержания иммунного гомеостаза. Предложенная гипотетическая схема стимуляции иммунитета изначально интактных крыс реципиентов ЦСЖ согласуется с утверждением отдельных авторов о том, что введение различных иммунологически активных субстанций в III желудочек мозга позволяет изменять вектор иммунотропных влияний гипоталамуса в желаемом направлении [7;8].

#### **Заключение.**

1. Адопция аллогенной интактной ЦСЖ в гипоталамическое ликворное микроокружение, не оказывает значимого влияния на показатели активности иммунной системы крыс с моделью ХТГ.

2. Адопция аллогенной ЦСЖ, полученной от крыс с ХТГ, смоделированным за 14 дней до адопции, ведет к угнетению активности иммуноцитов периферической крови за счет интенсификации сбоя центральных механизмов поддержания иммунного гомеостаза у крыс реципиентов ликвора с аналогичной моделью ХТГ, вызванной позднее.

3. Адопция аллогенной ЦСЖ, полученной от крыс с ХТГ, индуцирует компенсаторное повышение количества иммуноцитов периферической крови у изначально интактных реципиентов ликвора, т.е. имеет место активация иммунной системы крыс без ХТГ, обусловленная ложной активирующей афферентной сигнализацией в центр поддержания иммунного гомеостаза.

Работа выполнена при поддержке Научного Комитета НАТО (грант FEL.RIG.980765).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаев Н. Х., Каримов Х. Я. Печень при интоксикациях гепатотропными ядами. – Ташкент: Медицина, 1989. – 96 с.
2. Каримов Х. Я., Тухтаев Н. К. //Узбекский биол. журнал. – 1999. - №3. – С. 29-31.
3. Майер К. П. Гепатит и последствия гепатита. – М., 2001. – С. 424.
4. Anisman H., Baines M.G. et all. //CMAJ. 1996. № 8 (155). P. 1075-1082.
5. Hillebrands J.-L., Klatter F., Raué H.-P., Koops R. et all. //Transplantation Proceedings 1999., Vol. 31., P. 1563-1566
6. Paxinos G., Watson Ch. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 2 Ed., Academic Press, Sydney, 1986. P. 579
7. Rassnick S., Zhou D., Rabin B.S. //Am. J. Physiol. 1995. №1 (269). P.92-97.
8. Stevenson P.G., Hawke S., Bangham C.R. //J. Virology. 1997. №1 (232). P.158-166.
9. Straub R.H., Scholmerich J., Zietz B. //Z. Rheumatol. 2000. (59, Suppl.2-II). P.108-118.
10. Weller R.O., Engelhardt B., Philips M.J. //J. Brain. Pathol. 1996. №3 (6). P.275-288.

### CHRONIC TOXIC HEPATITIS REALIZATION IN CONDITIONS OF ALLOGENIC CSF ADOPTION

Karimov Kh.Ya., Utyamishev R.G.

The carried out study demonstrated that the CSF adopted from intact rats had no influence on immune status parameters in rats with toxic hepatitis model, probably, because of synthetic processes inhibition caused by liver dysfunction. Contrary, there was the significant decrease of immune state parameters in CSF recipients with the model of toxic hepatitis because of CSF adoption from rats with the same pathology model reproduced 14 days before adoption procedure, this was caused by failure of immune homeostasis maintenance central mechanisms. Also, it's shown that the CSF adoption from donors with the model of hepatitis is stimulating increase in immune system parameters in initially intact rats, possibly, because of adaptive intensification of regulatory signaling by center of immune homeostasis maintenance.