

2. Скворцова В.И. Методические рекомендации по проведению исследования / В.И. Скворцова, Л.В. Стаховская, Н.Ю. Айриян, К.В. Шеховцова, Н.А. Пряникова, К.С. Мешкова, М.В. Попов // – 2006.

3. Панькин В.И. Коррекция гипергликемии при острых нарушениях мозгового кровообращения. – 2007.

4. Яхно Н.Н. Болезни нервной системы: Руководство для врачей: в 2-х т. – Т.1 / Н.Н. Яхно, Д.Р. Штульман // – 3-е изд., перераб и доп. – М.: Медицина. – 2003. – 744 с.

УДК 616-092.19

**З.А. Пьянкова, С.Ю. Медведева**

**РОЛЬ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В РЕГЕНЕРАТОРНЫХ ПРОЦЕССАХ ПРИ  
ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ**

Кафедра физиологии человека и животных  
Уральский федеральный университет имени первого Президента России  
Б. Н. Ельцина, департамент «Биологический факультет»  
Екатеринбург, Российская Федерация

**Z.A. Pyankova, S.Y. Medvedeva**

**ROLE OF THE T- AND B-LYMPHOCYTES IN THE REGENERATIVE  
PROCESSES DURING THE TOXIC HEPATITIS**

Department of human and animal physiology  
Ural federal university, faculty of biology  
Ekaterinburg, Russian Federation

**Контактный e-mail:** [zlata\\_pyankova@mail.ru](mailto:zlata_pyankova@mail.ru)

**Аннотация.** На модели токсического гепатита у крыс, вызванного введением тетрахлорметана (CCl<sub>4</sub>), было проведено морфометрическое исследование печени, оценен вклад Т- и В-лимфоцитов в стимуляцию пролиферативных процессов после токсического повреждения органа. Анализ полученных данных показал, что количество Т-лимфоцитов резко возрастает в ранние сроки эксперимента, а в более поздний срок исследования снижается до нормы, в свою очередь число В-лимфоцитов остается стабильно низким во все изучаемые периоды токсического гепатита. Таким образом, это доказывает морфогенетическую роль Т-лимфоцитов и участие этих клеток в регенерации.

**Annotation.** During the experiment, the model of toxic hepatitis was created in the rat liver by administration of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>). Then was carried morphometric study of the liver, estimated the contribution of T and B lymphocytes in the stimulation of proliferative processes in the liver after the toxic damage. Analysis of the data showed that the number of T-lymphocytes rises quickly in the

early stages of the experiment, and later is reduced to normal. However, the number of B-lymphocytes remains consistently low in all studied stages of toxic hepatitis. Thus, it proves morphogenetic role of T-lymphocytes, and participation of these cells in regeneration.

**Ключевые слова:** токсическое повреждение, гепатоцит, альтерация, лимфоцит.

**Keywords:** toxic damage, hepatocyte, alteration, lymphocyte.

Важным компонентом патогенеза токсического гепатита является воспалительная реакция. При этом воспаление с одной стороны потенциальный фактор, усугубляющий тяжесть течения заболевания, а с другой – ограничивает степень поражения печеночных клеток, способствуя регенерации гепатоцитов [1, 2].

В процессе альтерации и развитии воспаления в соединительной ткани печени возрастает количество лимфоцитов и нейтрофильных лейкоцитов. Лимфоциты и лейкоциты являются источником биологически активных веществ, участвуя как в реакциях повреждения тканей и микробных агентов, так и в реакциях защиты и отграничения очага воспаления.

B-лимфоциты обеспечивают иммунологические механизмы защиты, участвуют в развитии специфических реакций гуморального типа в случае индукции воспалительного процесса различными антигенами бактериально-токсической и неинфекционной природы [3].

Реализация морфогенетической функции лимфоцитами осуществляется за счет образования клеточных контактов – на поверхности лимфоцитов имеется широкий спектр разнообразных рецепторов. Так, известно, что в регенерирующей печени на поверхности T-лимфоцитов экспрессируется ряд рецепторов, влияющих на синтез ДНК. Следовательно, пролиферативные процессы находятся под контролем иммунокомпетентных клеток.

**Цель исследования** – оценка вклада T- и B-лимфоцитов в развитие токсического гепатита и их роль в процессах регенерации.

#### **Материалы и методы исследования**

Эксперимент по моделированию токсического гепатита был выполнен на 40 крысах самцах линии wistar массой  $180 \pm 10$  г. в соответствии с принципами международных этических комитетов (Директива Совета ЕС 2010/63/EU) и одобрен этическим комитетом Института иммунологии и физиологии УрО РАН (протокол (No-D-ПМ-2015-28)). Крысы содержались в одинаковых условиях по 5 крыс в клетке на обычном рационе вивария со свободным доступом к пище и воде и температурным режимом  $20 \pm 2$  °C.

Для создания модели токсического гепатита использовали тетрахлорметан  $CCl_4$ , который вводился животным однократно внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг веса. Интактным животным вводили аналогичную дозу масляного раствора. Животных выводили из эксперимента на 3-и и 7-е сутки с помощью эфирного наркоза.

Подготовку образцов ткани печени для гистологического исследования осуществляли на автоматическом процессоре Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, что является общепринятой методикой окрашивания гистологических срезов для оценки структурных изменений в органах. Структурное исследование проводили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе ВидеоТест “Морфология” 5.0. Морфометрические исследования включали: определение индекса альтерации (количество гепатоцитов, ‰), определение митотического индекса ‰, определение количества двуядерных клеток, ‰. Для определения митотической активности на препарате в зоне деления подсчитывали общее число клеток в поле зрения и из них число клеток в фазах митоза. Анализ проводили в 10 полях зрения.

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование печени осуществляли с использованием Autostainer DAKO на формалин-фиксированных, цинк-фиксированных и парафиновых срезах с предварительной термической обработкой срезов в Pascal DAKO. Вначале применяли моноклональные антитела purified mouse antihuman Ki67, antirat CD3 clone G 4.18, CD45 clone OX-1 CD45 RA, clone OX-33, которые в разведении 1:30 инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре, а затем вторичные антитела biotin goat antimouse (multiple adsorption) в разведении 1:50. Антигенреактивные клетки выявляли при помощи тест-системы Novolink™ Polymer Detection System (Novocastra Lab., Ltd), контрастируя их хромогенным субстратом (3,3-диаминобензидин в буферном растворе). DAB-позитивные клетки идентифицировали по коричневому гранулярному окрашиванию цитоплазмы клеток. Проводили негативный и изотипический контроль, оценивая в срезах количество клеток с различной интенсивностью положительной ИГХ-реакции.

Вычисления и статистическая обработка результатов исследований выполнены с помощью программного пакета Microsoft Excel 7.0 для Windows 2007. Результаты анализировали с использованием однофакторного дисперсионного анализа, считали различия между группами достоверными при  $P \leq 0,05$ . Данные представлены в виде среднего арифметического ( $M$ )  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $m$ ).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

В результате гистологического исследования печени было установлено, что на 3-и сутки после введения  $CCl_4$  развиваются типичные признаки острого токсического гепатита проявляющегося в виде очаговых некрозов гепатоцитов с перифокальной лимфолейкоцитарной инфильтрацией. Развивающаяся экссудация обеспечивает транспорт защитных агентов в очаг воспаления, разведение находящихся там токсинов и играет центральную роль в обеспечении барьерности воспаления.

Отмечается выраженная диффузная вакуольная дистрофия гепатоцитов, анизоцитоз, анизонуклеоз.

Морфометрически установлено, что через трое суток после введения  $CCl_4$  на фоне высокого индекса альтерации у животных более интенсивно протекают процессы как клеточной, так и внутриклеточной регенерации гепатоцитов. Количество двуядерных, митотически делящихся клеток и экспрессия маркера Ki67 гепатоцитами значительно выше, чем в группе интактных животных.

К 7-м суткам эксперимента в печени экспериментальных животных снижается интенсивность экссудативного воспаления и нарастают деструктивные процессы. Существенно увеличивается индекс альтерации, но такие показатели как митотический индекс, количество двуядерных клеток и Ki67-позитивных – снижаются, значительно превышая аналогичные параметры интактных крыс (см. таблица 1).

В ткани сохраняются очаги некроза гепатоцитов с умеренной перифокальной инфильтрацией лимфоцитами. Также определяется зернистость гепатоцитов и клетки с признаками крупнокапельной вакуольной дистрофии. По-видимому, восстановление ткани печени происходит за счет деления сохранившихся гепатоцитов.

Таблица 1

Влияние токсического действия четыреххлористого углерода на показатели клеточной и внутриклеточной регенерации гепатоцитов ( $M \pm m$ )

Показатель	Группа		
	Интактные	$CCl_4$ , 3-и сут	$CCl_4$ , 7-е сут
Митотический индекс, ‰	$0,5 \pm 0,33$	$43,7 \pm 0,23^*$	$28,6 \pm 0,12^{*+}$
Ki67-позитивные клетки	$14,3 \pm 1,5$	$47,6 \pm 10,9^*$	$14,3 \pm 2,6 +$
Двуядерные клетки, ‰	$15,4 \pm 1,43$	$51,8 \pm 0,34^*$	$51,5 \pm 0,15^*$
Индекс альтерации, ‰	$21,8 \pm 1,54$	$333,2 \pm 27,62^*$	$421,5 \pm 0,15^{*+}$

*Примечание: \* -  $p < 0,05$  в сравнении с интактными животными; + -  $p < 0,05$  в сравнении с параметрами 3-х суток.*

Обнаруженные морфологические изменения структуры печени, возможно, обусловлены выраженной воспалительной реакцией, которая развивается практически сразу после введения токсиканта. Количественная оценка лимфоцитов в печени крыс показала, что на 3 сутки эксперимента по сравнению с интактными здоровыми животными количество клеток экспрессирующих CD 45 увеличивалось периваскулярно в 20 раз, а паренхиме печени в 15 раз, тогда как к 7 суткам исследования количество лейкоцитов в органе уменьшалось, но оставалось выше исходных значений в среднем в 4,5 раза. Так как CD 45+ является общим лейкоцитарным антигеном нами была предпринята попытка оценить вклад Т- и В-лимфоцитов в развитии токсического гепатита, поскольку известно, что лимфоциты в ранний период

восстановительного роста после токсического повреждения органа способны стимулировать в нем пролиферативные процессы. При иммунофенотипировании выявлено, что количество Т-лимфоцитов в ранние сроки эксперимента увеличивается приблизительно в 17 раз, снижаясь до нормы в более поздний срок исследования, а число В-лимфоцитов остается стабильно низким во все изучаемые периоды токсического гепатита (таблица 2). Это еще раз доказывает морфогенетическую роль Т-лимфоцитов и участие этих клеток в регенерации.

Таблица 2

Количество лимфоцитов с разными иммунофенотипом в печени крыс в динамике течения токсического гепатита и модуляции активности макрофагов (в 1 мм<sup>2</sup> среза)

Группы	Интактные	ССl <sub>4</sub> 3 сутки	ССl <sub>4</sub> 7 сутки
CD 45 (лейкоциты)			
Паренхима	13,89±1,39	187,89±8,58*	71,89±6,22*
Периваскулярно	17,83±2,31	367,62±16,40*	73,35±5,16*
CD 3+ клетки (Т-лимфоциты)			
Паренхима	0,80±0,20	12,04±0,4*	0,45±0,01*
Периваскулярно	0,87±0,26	28,7±0,63	0,40±0,01*
CD45RA клетки (В-лимфоциты)			
Паренхима	5,85±1,27	0,55±0,12*	0,66±0,04*

*Примечание: \* - различия с интактными животными достоверны, P<0,05.*

### **Выводы:**

1. Интенсивные процессы как клеточной так и внутриклеточной регенерации гепатоцитов отмечены на третьи сутки после введения ССl<sub>4</sub>, о чём свидетельствуют высокие показатели индекса альтерации гепатоцитов, увеличенное количество двуядерных, митотически делящихся и Ki67-позитивных клеток. На седьмые сутки, по сравнению с предыдущим сроком исследования, признаки острого токсического поражения печени уменьшаются;

2. Лимфоциты в ранний период восстановительного роста после токсического повреждения органа способны стимулировать в нем пролиферативные процессы. При иммунофенотипировании выявлено, что количество Т-лимфоцитов в ранние сроки эксперимента увеличивается приблизительно в 17 раз, снижаясь до нормы в более поздний срок исследования, а число В-лимфоцитов остается стабильно низким во все изучаемые периоды токсического гепатита. Это доказывает морфогенетическую роль Т-лимфоцитов и участие этих клеток в регенерации.

### **Литература:**

1. Галимова С.Ф. Лекарственные поражения печени (Часть 1-я). //Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2012. – Т.22. – № 6. – С. 38-48.

2. Кутепов Д.Е. Сравнительная оценка эффективности экстракорпоральных методов и оптимизация лечения больных хронической печеночной недостаточностью: автореф. док. мед. наук/ ФГБУ ДПО «УНМЦ». – Москва. – 2014. – 228 с.

3. Чеснокова Н.П. Воспаление: этиология, патогенез, патогенетическое обоснование принципов терапии / Н.П. Чеснокова, Т.А. Невважай, О.Л. Морозова // Изд-во Саратовского медицинского университета. – 2008. – 120 с.

УДК 616.9:504.03

**А.В. Ракитина, С.М. Мокшанцева, В.А. Лукаш**  
**БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КРОВИ ПРИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ**

Кафедра биохимии  
Уральский государственный медицинский университет,  
Екатеринбург, Российская Федерация

**A.V. Rakitina, S.M. Mokshantseva, V.A. Lukash**  
**BIOCHEMICAL CHANGES IN THE BLOOD IN HIV INFECTION**

Department of biochemistry  
Ural state medical university  
Ekaterinburg, Russian Federation

**Контактный e-mail:** [alla.rakitina.96@mail.ru](mailto:alla.rakitina.96@mail.ru)

**Аннотация.** В статье рассмотрен вопрос о биохимических изменениях крови ВИЧ-инфицированных людей, что отражено в биохимии и общем анализе крови. Взяты во внимание сопутствующие ВИЧ-инфекции вторичные заболевания и их влияние на показатели крови непосредственно. Отражены факторы внешней среды, отрицательное воздействие которых приводит к сдвигу показателей ниже или выше нормы.

**Annotation.** The article deals with the question of the biochemical changes in the blood of HIV-infected people, which is reflected in biochemistry and general blood tests. As well as taken into account the associated HIV infection secondary diseases and their effect on blood parameters directly. Reflected environmental factors, which adversely impact performance shifts below or above normal.

**Ключевые слова:** биохимия, ВИЧ-инфекция, показатели крови, заболевание.

**Keywords:** biochemistry, HIV-infection, blood counts, disease.

**Цель исследования** – анализ биохимических изменений внутренних органов с позиции показателей биохимии и общего анализа крови при ВИЧ-инфекции, установка непосредственной связи между цифровыми показателями и влиянием внешних факторов.