

УДК 616.9-08-071(076.5)

ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЛОЖНОГО ГЕНЕЗА

© 2019 г. А. М. Земсков¹, В. М. Земсков², *, М. А. Луцкий¹,
С. С. Попов¹, А. Н. Пашков¹, В. А. Земскова¹

¹Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского, Москва, Россия

*e-mail: arturrego@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.05.2019 г.

После доработки 13.05.2019 г.

Принята к публикации 13.05.2019 г.

На клинических моделях ишемического и геморрагического инсультов, отягощенных метаболическим синдромом, и диффузных заболеваний печени при оценке иммунобиохимических показателей и использовании формализованной статистики показано: формирование под влиянием метаболического синдрома качественно однотипной, количественно более выраженной при геморрагическом инсульте, реакции в виде дисбаланса первичных и вторичных продуктов свободно радикального окисления липидов и белков, преимущественной активации ферментативных и неферментативных механизмов антиоксидантной системы на фоне накопления провоспалительных цитокинов, а у пациентов с диффузными заболеваниями печени — наличие универсального механизма связи интенсивности окислительного стресса (свободнорадикальное окисление) с развитием цитолитического синдрома, отклонениями липидного обмена, иммунного статуса, инициации механизмов апоптоза.

Ключевые слова: инсульт, гепатит, метаболизм, иммунитет

DOI: 10.1134/S0042132419050119

ВВЕДЕНИЕ

Поскольку реализация феноменов иммунного реагирования неразрывно ассоциирована с метаболическими процессами — системой цАМФ/цГМФ (циклический аденозинмонофосфат/циклический гуанозинмонофосфат), синтезом нуклеиновых кислот, белков, антител, цитокинов, модификацией рецепторов иммунокомпетентных клеток, высвобождением регулирующих факторов — низкомолекулярных нуклеиновых кислот, острофазовых белков, продуктов распада иммунных глобулинов, активацией фагоцитарных ферментов и др. указанное функциональное единство иммуно-биохимических процессов является проявлением единого феномена — метаболического иммунитета с перспективной возможностью его направленной регуляции (Луцкий и др., 2011, 2016; Попов и др., 2014; Земсков и др., 2016).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На разрешение было поставлено исследование влияния признаков метаболического синдрома (МС) — увеличения индекса массы тела, уровня глюкозы, инсулина, дисбаланса липопротеидов высокой и низкой плотности, гипертонической

болезни 1–2 стадии на иммунолабораторные расстройства у больных ишемическим (ИИ) и геморрагическим (ГИ) инсультами; изучение влияния метаболических нарушений при диффузных заболеваниях печени — диабетического неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), алкогольного гепатита (АГ) и лекарственного гепатита (ЛГ) на степень цитолитического синдрома гепатоцитов, показатели липидного и углеводного обменов, иммунного статуса, интенсивность окислительного стресса и процессы апоптоза.

Под наблюдением находились 50 здоровых лиц, 50 больных с ИИ, 50 больных с ГИ, осложненными МС; 74 пациента с АГ, 87 с НАСГ и 105 больных с ЛГ.

У пациентов определяли: (1) индекс массы тела (ИМТ); (2) параметры углеводного обмена — глюкозу, инсулин, гликозилированный гемоглобин (Hb A1c); (3) липидного обмена — общего холестерина (ОХ), липопротеидов высокой и низкой плотности (ЛПВП и ЛПНП); (4) свободнорадикального окисления (СРО) липидов и белков — кетодиенов (КД), диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), битирозиновых сшивок (БС), оснований Шиффа (ОШ); (5) показателей антиоксидантной системы — общей

окислительной активности плазмы (ООА), общей окислительной способности (ООС), супероксиддисмутазы (СОД), витамина Е (ВЕ), восстановленного глутатиона (ВГ), общей антиокислительной активности липидов крови (ААЛ), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), каталазы (К). В специальном исследовании для оценки интенсивности СРО и общей антиоксидантной активности применяли метод биохемилюминесценции. В качестве параметров цитокинового профиля использовали (6) интерлейкины 1, 2, 4, 6, 8 (ИЛ-1, -2, -4, -6, -8), интерферон гамма (ИНФ- γ), фактор некроза опухоли (ФНО); (7) иммунных – сывороточные иммунные глобулины основных классов (IgA, M, G), циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК); (8) функции печени – аминотрансферазы (АКТФ), глутатионтранспептидазы (ГТП), холинэстеразы (ХЭ), аконитатгидратазы (аГ); (9) интенсивности апоптотических процессов – степень фрагментации ДНК лимфоцитов крови и активности каспаз (Попов, 2016).

С помощью параметрических и непараметрических критериев у больных учитывали отличия лабораторных показателей от нормативного уровня, от исходных параметров, от их значений после традиционной терапии. Для оценки вариаций параметров осуществляли группировку изученных показателей по методам исследования с ранговым рейтинговым анализом в двух версиях: путем определения рангов отличий величин параметров от заданного уровня по шкале (значительные – >66%, средние – 33–66%, несущественные – <33% вариации) и выстраиванием показателей по порядку, согласно модульным значениям коэффициента диагностической ценности с подсчетом суммы рейтинговых номеров параметров с трактовкой, учитывая: чем она меньше – тем выше отличия. С помощью K_j выявляли сигнальные исходные и итоговые формулы расстройств иммунной системы (ФРИС), формулы смещения показателей (ФСП), формулы мишеней иммунокоррекции (ФМИ), ключевых показателей ФМИ, независимых от базового лечения больных (ФМИсоб) (Земсков и др., 1999, 2015; Энциклопедия ..., 2013).

Для установления взаимосвязи метаболических параметров, окислительного стресса, апоптотических процессов с нарушениями иммунной системы у больных с диффузными заболеваниями печени с помощью комплекса статистических программ (Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.)) были определены “умеренные” и “сильные” связи между изученными лабораторными показателями с коэффициентом ранговой корреляции Спирмена более 0.3 при уровне значимости $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Трактовка иммунометаболических нарушений при патологических процессах основана на том, что процессы СРО занимают центральное место в метаболизме клетки, служат источником энергии, необходимой для жизнедеятельности, готовят пластический материал для создания и обновления клеточных структур, регулируют реакции, связанные с метаболизмом углеводов, липидов и белков. При ступенчатой деградации полиненасыщенных липидов в реакциях СРО образуются первичные, вторичные и конечные молекулярные продукты, играющие важную роль в процессах структурной модификации биомембран и изменений их физико-химических свойств (Vladimirov, Proskurnina, 2009). К первичным продуктам относят диеновые конъюгаты, кетодиены, к вторичным – малоновый диальдегид, битирозин, основания Шиффа.

В норме содержание продуктов СРО невелико, что достигается наличием в организме постоянно функционирующей эндогенной системы антиоксидантной защиты (АОЗ), ограничивающей процессы СРО липидов и белков с помощью ферментативных (супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы) и неферментативных (витамина Е, восстановленного глутатиона, общих тиолов, антирадикальной активности липидов крови) механизмов.

Указанные процессы ассоциированы с цитокиновой системой про- и противовоспалительных интерлейкинов, интерферонов, прочих факторов, регулирующих иммунные реакции, кроветворение, воспаление, процессы дифференцировки, регенерации клеток и др. (Soundravally, 2014).

Ишемический и геморрагический инсульты, осложненные метаболическим синдромом

Данные обследования больных с указанными заболеваниями обобщены в табл. 1.

Как следует из полученных данных, при ИИ и ГИ, отягощенных метаболическим синдромом (МС), у больных сформировалась однотипная качественная реакция: стимуляция от нормативного уровня образования первичных и вторичных продуктов СРО (ДК, КД, МДА, БС, ОШ), активация основных ферментативных механизмов АОС (СОД, К, ГР), кроме сниженного ГП и торможения неферментативных факторов (ВЕ, ВГ, ААЛ), накопление провоспалительных (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФ- γ , ФНО) и снижение противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов.

Указанные данные можно охарактеризовать как окислительный стресс на фоне активации воспалительных процессов.

При прямом сопоставлении значений иммунометаболических показателей при ГИ относительно ИИ, установлено преимущественное накопление

Таблица 1. Влияние метаболического синдрома на иммунолабораторные показатели у больных ишемическим и геморрагическим инсультами

Показатель	Контроль нормы <i>n</i> = 50	ИИ + МС <i>n</i> = 50	ГИ + МС <i>n</i> = 50	ИИ от ГИ
ИМТ, кг/м ²	20.5 ± 0.1	23.3 ± 0.1	24.7 ± 0.12	
Показатели СРО				
КД, ОЕ/мл × 100	16.1 ± 0.5	17.0 ± 0.5*	22.9 ± 2.2*	+
ДК, ОЕ/мл × 100	39.1 ± 0.1	42.2 ± 0.1*	55.8 ± 0.2*	+
МДА, мкМ/мл	1.6 ± 0.003	1.9 ± 0.003*	1.7 ± 0.06*	–
БС, ОЕ/мл × 100	0.3 ± 0.002	0.4 ± 0.002*	0.36 ± 0.002*	–
ОШ, ОЕ/мл × 100	30.8 ± 0.3	38.2 ± 0.2*	34.9 ± 0.2*	–
Показатели АОС				
ВЕ, мкМ/л	25.7 ± 0.3	19.2 ± 0.3*	20.9 ± 0.4*	+
ВГ, мМ/л	0.4 ± 0.001	0.44 ± 0.001*	0.3 ± 0.002*	–
ААЛ, квант/с мл	60.4 ± 0.4	40.3 ± 0.4*	51.9 ± 0.3*	+
СОД, ОЕ/мг	1.2 ± 0.02	1.3 ± 0.012*	1.4 ± 0.001*	+
ГП, мкМ/л мин	9.8 ± 0.05	8.5 ± 0.09 *	20.9 ± 0.05*	+
ГР, мкМ/л мин	367.9 ± 1.1	390.7 ± 2.9*	401.5 ± 1.1*	+
К, мкМ/л мин	36.6 ± 0.5	37.5 ± 0.5*	39.6 ± 0.3*	–
Цитокины				
ИЛ-1, пг/мл	1.4 ± 0.03	2.1 ± 0.02*	3.5 ± 0.04*	+
ИЛ-4, пг/мл	1.8 ± 0.05	1.1 ± 0.01*	0.7 ± 0.03*	–
ИЛ-6, пг/мл	2.9 ± 0.1	4.8 ± 0.4*	5.9 ± 0.09*	+
ИЛ-8, пг/мл	3.9 ± 0.01	6.7 ± 0.2*	8.5 ± 0.08*	+
ИНФ-γ, пг/мл	15.8 ± 0.3	22.5 ± 0.8*	29.7 ± 0.6*	+
ФНО, пг/мл	4.7 ± 0.1	12.1 ± 0.33*	17.4 ± 0.1*	+

Примечание. * – достоверность отличий от уровня нормы, при $P < 0.05$, + или – – вектор достоверной динамики от заданного уровня; обозначения см. в тексте.

первичных и уменьшение вторичных продуктов СРО, то есть их дисбаланс; увеличение концентрации большинства ферментативных, неферментативных факторов АОС и всех изученных провоспалительных цитокинов.

С помощью модуля *Kj* был выстроен итоговый снижающийся рейтинг изученных лабораторных параметров, относящихся к СРО, АОС, к цитокинам с определением вектора и степени изменений каждого и порядкового номера (ранга) показателя (Земсков и др., 2015).

Установлено, что при ишемическом инсульте снижающийся рейтинг показателей имел следую-

щий вид: ИЛ6₂⁺ → ОШ₁⁺ → ДК₁⁺ → КД₁⁺ → К₁⁺ → ИЛ8₁⁺ → МДА₁[–] → БС₁⁺ → ИЛ1₁⁺ → ФНО₁⁺ → СОД₁⁺ → ИНФ-γ₁⁺ → ГП₃⁺ → ВЕ₁[–] → ААЛ₁[–] → ИЛ4₂[–] → ГР₁⁺ → ИЛ2₂⁺;

при геморрагическом инсульте: ДК₂⁺ → ФНО₁⁺ → ИЛ2₁⁺ → КД₂⁺ → ОШ₁[–] → К₁⁺ → ИЛ6₂⁺ → МДА₁[–] → ИЛ8₁⁺ → БС₁[–] → ВГ₁[–] → СОД₁[–] ИНФ-γ₁⁺ → ВЕ₁⁺ → ИЛ1₁⁺ → ААЛ₁⁺ → ИЛ4₁[–] → ГП₃⁺ → ГР₁⁺.

Подсчет суммы рангов лабораторных показателей, относящихся к отдельным вариантам обмена у больных, позволяет количественно сопоставить выраженность соответствующих изменений между собой.

Так, при ИИ + МС сумма рангов СРО составила 28, АОС – 96, цитокинов – 75; при ГИ + МС – соответственно – 24, 91, 59. Приведенные данные свидетельствуют, что геморрагический инсульт с метаболическим синдромом обуславливает более выраженные изменения окисления липидов и белков, антиоксидантной системы и цитокинового профиля.

Этот же метод расчета K_j позволяет определить сигнальные показатели ключевых формул лабораторных расстройств при обоих нозоформах заболеваний. При ИИ + МС формула имела вид: $ИЛ6_2^+ ОШ_1^+ ДК_1^+$ – накопление провоспалительного ИЛ-6 второй степени, а также оснований Шиффа и диеновых конъюгатов первой степени; при ГИ + МС $→ ДК_2^+ ФНО_2^+ ИЛ_2^+$ – стимуляция образования диеновых конъюгатов, ФНО альфа и ИЛ-2 средней выраженности во всех случаях.

Таким образом, у пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультами, отягощенных метаболическим синдромом, формируется качественно и количественно более выраженная при ГИ реакция в виде дисбаланса первичных и вторичных продуктов свободнорадикального окисления липидов и белков, преимущественная активация ферментативных и неферментативных механизмов антиоксидантной системы на фоне накопления провоспалительных цитокинов.

Диффузные заболевания печени

У больных с алкогольным гепатитом было установлено, что биохимические показатели (АТФ, ГТП, ОХ, ЛПНП) проявляли прямые внутри- и межсистемные ассоциации с параметрами иммунного статуса, свободнорадикального окисления и апоптотических процессов. При этом тесные прямые связи формировались между показателями степени повреждения гепатоцитов (аминотрансфераз, гамма-глутамилтранспептидаз) и гиперпродукцией IgA, IgG и ЦИК, а также с параметром биохемиллюминесценции S, что свидетельствует о взаимном влиянии интенсивности свободнорадикального окисления биомолекул на повреждение клеток печени и нарушение иммунного статуса при АГ.

Показатели липидного спектра – ОХ, ЛПНП были непосредственно сопряжены как с нарушением свободнорадикального гомеостаза, так и с повреждением гепатоцитов.

При корреляционном анализе иммунные показатели проявляли множественные внутри- и межсистемные ассоциации между собой и другими биохимическими параметрами, отражая степень дисбаланса иммунной системы. Например, прямая ассоциация Ig разных классов и ЦИК с концентрациями ДК указывает на сопряженность процессов свободнорадикального окисления биомолекул и иммунных параметров.

В то же время параметры СРО были тесно ассоциированы с показателями апоптотических процессов, что подтверждает роль окислительного стресса в инициации механизмов запрограммированной клеточной гибели, характеризующейся активацией каскада внутриклеточных каспаз.

У больных с НАСГ корреляционные связи между параметрами степени цитолитического синдрома (АТФ, ГТП), сдвигами липидного обмена (ОХ, ЛПНП) и гликозилированным гемоглобином отражали значение гипергликемии при периферической инсулинорезистентности и нарушений липидного обмена в патогенезе сахарного диабета 2-го типа у пациентов с НАСГ.

Поскольку параметры интенсивности СРО биомолекул (ДК) имели выраженные связи с рядом биохимических показателей, установлено, что интенсификация свободнорадикальных процессов является одним из ключевых механизмов развития данного заболевания, а также обосновывает роль окислительного стресса как фактора патогенеза, лежащего в основе нарушений липидного и углеводного обменов.

Необходимо также отметить, что активация процессов пероксидного окисления липидов в печени сопровождается подавлением катаболизма холестерина в гепатоцитах, что, в свою очередь, способствует поддержанию повышенного уровня общего холестерина в крови.

При корреляционном анализе вариаций иммунных показателей была показана прямая ассоциация иммуноглобулинов и ЦИК с концентрацией ДК, с показателем интенсивности свободнорадикальных процессов – параметром биохемиллюминесценции S, а также – с АТФ, ГТП, что указывает на сопряженность процессов СРО биомолекул и цитолитического синдрома в печени с нарушением иммунного статуса организма при НАСГ, развивающимся на фоне сахарного диабета 2-го типа.

Корреляционные связи апоптотических параметров также свидетельствовали об инициации механизмов запрограммированной клеточной гибели в результате чрезмерного образования свободных радикалов. При этом каспаза-1 была прямо ассоциирована с уровнем липопротеидов низкой плотности и гликозилированного гемоглобина. Поэтому, вероятно, апоптотические процессы могут

быть связаны не только с гибелью β -клеток поджелудочной железы, но и с гиперпродукцией свободных радикалов в митохондриях в условиях гипергликемии, приводящей к блокаде гликолиза. Также известно, что развитие инсулиновой недостаточности при сахарном диабете 2-го типа связано с эффектом глюкозо- и липотоксичности за счет индукции окислительного стресса (Poitout, Robertson, 2002).

Анализ ассоциативных связей лабораторных параметров у больных с лекарственным гепатитом также показал образование тесных прямых связей между показателями биомолекул СРО и параметрами, отражающими степень повреждения гепатоцитов, дисбалансом иммунной системы и показателями апоптотических процессов.

Таким образом, установлен универсальный механизм связи интенсивности свободнорадикального окисления с развитием цитолитического синдрома, отклонениями липидного обмена, иммунного статуса, инициации механизмов апоптоза при развитии диффузных заболеваний печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в статье подробно освещено функциональное единство иммуно-биохимических процессов, которое является проявлением единого феномена метаболического иммунитета, который может быть модифицирован под ряд конкретных клинических задач. Это единство тесно связано с функционированием регуляторной системы цАМФ/цГМФ, белков, цитокинов, ферментов, различных антител, нуклеиновых кислот, модификацией функции иммунокомпетентных, фагоцитарных и неиммунных клеток, рилизом острофазовых реактантов, иммунорегуляторными фрагментами иммуноглобулинов и многими другими процессами. Метаболический иммунитет является новой иммунной категорией, которая в настоящее время изучается чрезвычайно широко.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнялась в рамках Программы плановых исследований НИР в Воронежском государственном медицинском университете им. Н.Н. Бурденко и в Национальном медицинском исследовательском центре хирургии им. А.В. Вишневского, Москва.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Разрешения от каждого из включенных в исследование участников и информированное добровольное согласие не требуются, поскольку пациенты подвергались исследованиям в плане оказания медицинской помощи, предусмотренной Минздравом России в условиях стационарного лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В.* Клиническая иммунология. М.: Наука, 1999. 603 с.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Земскова В.А. и др.* Настольная книга клинического иммунолога "Теоретические, практические и прикладные аспекты клинической иммунологии на современном этапе". М.: Триада-Х, 2015. 704 с.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Земскова В.А. и др.* Метаболический иммунитет // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2016. № 2. С. 41–49.
- Луцкий М.А., Есауленко И.Э., Земсков А.М.* Окислительный стресс при цереброваскулярных заболеваниях и инсульте. М.: Медицина, 2011. 237 с.
- Луцкий М.А., Земсков А.М., Савиных В.П.* Рассеянный склероз. Современные аспекты этиопатогенеза, диагностики, особенности клинического течения и лечения. Воронеж, 2016. 167 с.
- Попов С.С.* Оценка и коррекция антиоксидантного статуса и апоптотических процессов у больных с диффузными заболеваниями печени: Автореф. дис ... докт. мед. наук. Воронеж: Гос. мед. акад. им. Н.Н. Бурденко, 2016. 39 с.
- Попов С.С., Пашков А.Н., Шульгин К.К., Агарков А.А.* Интенсивность свободнорадикальных процессов и активность супероксиддисмутазы при хроническом алкогольном гепатите и применении препаратов, корригирующих уровень мелатонина // Наркология. 2014. № 4. С. 62–66.
- Энциклопедия иммунологии в 5 томах. Т. 3. Справочные материалы / Ред. А.М. Земсков, В.М. Земсков, В.А. Черешнев. М.: Триада-Х, 2013. 445 с.
- Poitout V., Robertson R.P.* Minireview: secondary β -cell failure in type 2 diabetes – a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity // *Endocrinology*. 2002. V. 143. P. 339–342.
- Soundravalley R.* Association between proinflammatory cytokines and lipid peroxidation in patients with severe dengue disease around defervescence // *Internat. J. Infect. Dis.* 2014. V. 18. P. 68–72.
- Vladimirov Yu.A., Proskurnina E.V.* Free radicals and cell chemiluminescence // *Biochemistry (Moscow)*. 2009. V. 74. № 13. P. 1545–1566.

Immune and Metabolic Associations in Diseases of Complex Genesis

A. M. Zemskov^a, V. M. Zemskov^{b, *}, M. A. Luzky^a,
S. S. Popov^a, A. N. Pashkov^a, V. A. Zemskova^a

^a*Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia*

^b*Vishnevsky National Medical Surgery Research Center, Moscow, Russia*

**e-mail: arturrego@yandex.ru*

Received May 10, 2019

Revised May 13, 2019

Accepted May 13, 2019

Clinical models of ischemic and hemorrhagic strokes, aggravated by metabolic syndrome and diffuse liver diseases in the evaluation of immuno-biochemical parameters and the use of formalized statistics show: the formation of a qualitatively homogeneous type under the influence of the metabolic syndrome, a more pronounced hemorrhagic stroke products of free radical oxidation of lipids and proteins, predominant activation of enzymatic and non-enzyme-commutative mechanisms of antioxidant system on a background accumulation of inflammatory cytokines, and in patients with diffuse liver diseases – the presence of the universal connection mechanism of free radical oxidation intensity (FRO) with the development of cytolytic syndrome, disorders of lipid metabolism, immune status, initiation of apoptosis mechanisms.

Keywords: stroke, hepatitis, metabolism, immunity