

**ЕЛМАНОВА  
НИНА ГЕОРГИЕВНА**

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУННОЙ  
РЕГУЛЯЦИИ, ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ  
ЛИПИДОВ - АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ  
МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ ЖЕЛЧНОКАМЕННОГО ГЕНЕЗА**

14.03.03 - патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Благовещенск -2020

Работа выполнена в научно-исследовательском институте медицинских проблем Севера (НИИ МПС) – обособленном подразделении федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН) (г. Красноярск).

**Научный руководитель:**

**Смирнова Ольга Валентиновна**, доктор медицинских наук, доцент.

**Официальные оппоненты:**

**Маркелова Елена Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра нормальной и патологической физиологии, заведующий.

**Виткина Татьяна Исааковна**, доктор биологических наук, профессор, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, заведующая лабораторией медицинской экологии и рекреационных ресурсов

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится **«25» декабря 2020 г. в 14:30 часов**

на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.199.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, д. 95.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, д. 22) и на сайте <https://cfpd.ru>

Автореферат разослан «    » октября 2020г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

Приходько Анна Григорьевна

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность темы исследования.** Механическая желтуха – клиническое состояние, обусловленное наличием препятствия для оттока желчи в двенадцатиперстную кишку. Из всех патологий органов билиопанкреатодуоденальной зоны механическая желтуха встречается в 12,0-45,2% случаев [Гагуа, 2016; Katz, 2011]. Механическая желтуха протекает остро в результате закупорки желчевыводящих протоков из-за перемещения конкрементов, которые локализованы в общем желчном протоке, или постепенно в результате отека, стеноза, прорастания опухолью.

В научной литературе встречаются обзоры и метаанализы, посвященные изучению причин и распространенности механической желтухи, среди которых важными являются нарушения иммунного ответа и интоксикация организма [Gracanin, 2013; Williams, 2017]. Однако комплексных исследований по выявлению взаимосвязей и поиска наиболее значимых биомаркеров нарушения иммунной реактивности и процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) при механической желтухе в зависимости от уровня билирубина в крови нет, что делает приоритетными работы в данной области патофизиологии.

**Степень разработанности темы исследования.** Чаще всего механическая желтуха доброкачественного генеза развивается при прогрессировании желчнокаменной болезни. Изменение диффузии желчных кислот, проникновение кишечной микробиоты в кровоток, развитие вторичного иммунодефицита и интоксикация организма считаются важными факторами патогенеза механической желтухи. Высокое содержание билирубина в крови и тканях не единственная причина развития интоксикации при механической желтухе. По данным литературы, именно большое число токсиантов вызывают симптомы эндогенной интоксикации, увеличивают тяжесть заболевания. В результате развития холемии неизбежно нарушается иммунная реактивность. В научной литературе описано, что у больных с механической желтухой изменения в иммунной

системе могут варьировать в широких пределах. У больных регистрируется недостаточность клеточно-эффекторного звена иммунитета [Воронова, 2015;]. Было отмечено, что у пациентов механической желтухой неопухолевого генеза наблюдается увеличение числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов и NK-клеток [Abshagen, 2015;]. Литературные данные немногочисленны и противоречивы.

У больных механической желтухой наблюдались изменения содержания иммуноглобулинов в виде повышения IgA и IgG [Воронова, 2015;]. Имеются данные о повышении содержания иммуноглобулинов класса М и Е [Рутенбург, 2008]. Значительную роль в развитии заболеваний желчевыводящих путей играют цитокины [Bueno, 2014]. У больных механической желтухой увеличено содержание провоспалительных и снижено содержание противовоспалительных цитокинов [Гаджиев, 2015;].

У больных механической желтухой неопухолевого генеза отмечаются выраженные изменения в системе ПОЛ-АОЗ с преобладанием проокислительного компонента с угнетением антиоксидантной функции крови, что позволяет рассматривать данные изменения как патогенетические [Зарубина, 2014; Костюченко, 2006; Смирнова, 2011].

В современной научной литературе отсутствуют работы, в которых проводился бы комплексный анализ изменений функционирования про- и антиоксидантного статуса организма в сочетании с развивающимися иммунными нарушениями в патогенезе механической желтухи при различном уровне билирубина в крови. В связи с этим изучение иммунологических и метаболических аспектов патогенеза механической желтухи позволит выявить новые диагностические маркеры в оценке механической желтухи желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина в крови.

### **Цель исследования**

Установить патофизиологические механизмы взаимодействий систем иммунной регуляции, перекисного окисления липидов – антиоксидантной

защиты у больных механической желтухой желчнокаменного генеза с различным уровнем билирубина в крови.

#### **Задачи исследования**

1. Оценить особенности клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных механической желтухой желчнокаменного генеза с различным уровнем билирубина в крови.

2. Провести анализ показателей цитокинов (IL-2, IL-18, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-4 и IL-10) у больных механической желтухой желчнокаменного генеза с различным уровнем билирубина в крови.

3. Определить изменения показателей системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» в эритроцитах больных механической желтухой желчнокаменного генеза с различным уровнем билирубина в крови.

4. Провести анализ взаимодействий показателей иммунного ответа и ПОЛ-АОЗ и установить патогенетически значимые прогностические предикторы развития механической желтухи желчнокаменного генеза у больных с различным уровнем билирубина.

**Научная новизна.** Получены новые фундаментальные данные о механизмах нарушения реактивности иммунной и ПОЛ-АОЗ систем у больных механической желтухой желчнокаменного генеза с различным уровнем билирубина в крови.

Впервые установлены особенности функционирования клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных механической желтухой желчнокаменного генеза, при уровне билирубина в крови менее 60 мкмоль/л происходит снижение Т-лимфоцитов, CD4<sup>+</sup>- и цитотоксических клеток, NK – клеток, увеличиваются лейко-Т- и лейко-В-клеточные индексы и количество CD25<sup>+</sup>-лимфоцитов; при содержании билирубина более 60 мкмоль/л дополнительно уменьшается число CD95<sup>+</sup>-клеток.

В гуморальном звене иммунитета впервые описано, что в зависимости от билирубинемии реализуются разнонаправленные изменения: при

билирубине менее 60 мкмоль/л обнаруживается гипергаммаглобулинемия по классу Е; при уровне билирубина 60-200 мкмоль/л – гипергаммаглобулинемия по классам А, М, G, Е и увеличение показателей уровня относительного синтеза соответствующих иммуноглобулинов; при содержании билирубина более 200 мкмоль/л – гипергаммаглобулинемия по классам А, G и Е, гипогаммаглобулинемия по IgM при повышении уровней относительного синтеза всех иммуноглобулинов.

Впервые представлено, что у больных механической желтухой желчнокаменного генеза при нарастании билирубинемии происходит активация иммунного ответа по Th-1 механизму: при содержании билирубина в крови менее 60 мкмоль/л увеличивается уровень провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-18) и снижается противовоспалительный цитокин (IL-10); при содержании билирубина более 60 мкмоль/л – увеличиваются количества TNF- $\alpha$ , IL-2, INF- $\gamma$  и снижаются IL-10 и IL-4.

Впервые доказано, что при механической желтухе желчнокаменного генеза выявляются выраженные нарушения в системах перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, при нарастании билирубинемии усугубляется дисбаланс системы ПОЛ-АОЗ, что проявляется в эритроцитах в виде увеличения вторичных продуктов окислительной модификации липидов – МДА, активности глутатион-s-трансферазы и глутатионпероксидазы при функциональной недостаточности антиокислительной активности супероксиддисмутазы, каталазы и восстановленного глутатиона.

Установлено ослабление большинства корреляционных взаимосвязей показателей ПОЛ-АОЗ и иммунной систем при механической желтухе. Однако число корреляционных зависимостей увеличивается с повышением содержания билирубина в крови, что доказывает напряжённость иммунной и ПОЛ-АОЗ систем.

Впервые разработаны прогностические модели развития механической желтухи желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина.

Разработана концептуальная схема патофизиологических изменений иммунной системы и ПОЛ-АОЗ при механической желтухе желчнокаменного генеза.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** На основании комплексного подхода к изучению механической желтухи желчнокаменного генеза были получены новые данные о состоянии клеточного и гуморального иммунитета, цитокиновой регуляции, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах при механической желтухе желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина.

При механической желтухе с содержанием билирубина в сыворотке крови менее 60 мкмоль/л обнаруживалось угнетение Т-клеточного звена иммунитета, преимущественный Th1-механизм иммунного реагирования, в эритроцитах – повышение перекисного окисления липидов; при билирубине 60-200 мкмоль/л сохранялись угнетение Т-клеточного звена иммунитета, Th1-механизм иммунного реагирования, в эритроцитах высокий уровень перекисного окисления липидов, угнетение антиоксидантной защиты; при билирубине более 200 мкмоль/л дополнительно выявлялся дисбаланс гуморального звена иммунитета и дисфункция антиоксидантной защиты в эритроцитах. Эти данные расширяют и углубляют современные представления о патогенезе механической желтухи желчнокаменного генеза и позволили разработать прогностические модели прогрессирования данного заболевания.

Был разработан и внедрен новый способ прогнозирования тяжелого течения механической желтухи доброкачественного генеза (патент РФ № 2677468, 17.01.2019).

Основные положения диссертационной работы были внедрены в учебный процесс кафедры медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального

университета; в работу лаборатории клинической патофизиологии научно-исследовательского института медицинских проблем Севера (НИИ МПС) – обособленного подразделения федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН).

**Методология и методы исследования.** Настоящая работа является самостоятельной частью плановой научно-исследовательской работы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН) Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера (НИИ МПС). Было обследовано 209 человек, из них 84 – больные с механической желтухой желчнокаменного генеза с различным уровнем билирубина в крови.

Работа основана на результатах комплексного обследования с применением общеклинических, биохимических, иммунологических и статистических методов исследования.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. У больных механической желтухой желчнокаменного генеза отмечается зависимое от уровня билирубина в крови изменение состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета, нарушение в системе цитокиновой регуляции.

2. Механическая желтуха желчнокаменного генеза у больных характеризуется зависимой от уровня билирубина активацией процессов ПОЛ и подавлением АОЗ.

3. Для прогнозирования развития механической желтухи желчнокаменного генеза у больных с различным уровнем билирубина имеет значение определение совокупности факторов: в группе больных: с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л – CD3<sup>+</sup>-клетки, IL-10, IL-2 и МДА; с уровнем

билирубина 60-200 мкмоль/л – CD16<sup>+</sup>-клетки, CD3<sup>+</sup>-клетки, TNF $\alpha$ , IL-2, IL-10, МДА и каталаза; с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л – IgM, IgG, CD3<sup>+</sup>-клетки, CD16<sup>+</sup>-клетки, IL-10, IL-2, МДА, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза.

**Степень достоверности, апробация результатов.** Степень достоверности результатов определялась соответствием дизайна исследования доказательной медицины, использованием современных лабораторных методов исследования, обработкой полученных данных методами статистического анализа, адекватных поставленным задачам, с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008). Результаты, положения и выводы аргументированы фактическим материалом и логически вытекают из анализа полученных данных. Достоверность исследования подтверждена публикациями в рецензируемых научных изданиях. Основные положения были представлены на научно-практических конференциях молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (Красноярск, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019); Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективныи Свободный – 2015», посвященной 70-летию Великой Победы, Красноярск, 2015; Международной научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Молодежь и наука: перспективныи Свободный, 2016» (Красноярск, 2016); XIX конференции молодых ученых КНЦ СО РАН (Красноярск, 2016); XVIII симпозиуме «Сложные системы в экстремальных условиях» (Красноярск, 2016); Молодежной школе-конференции ФИЦ КНЦ СО РАН «Наука, промышленность, экология» (пос. Жемчужный, 2017, 2019); European Academy of Allergy and Clinical Immunology (2018 Munich, Germany); European Academy of Allergy and Clinical Immunology (2019 Lisbon, Portugal).

**Личное участие автора.** Личный вклад автора состоял в прямом участии на всех этапах диссертационного исследования. Планирование

работы, включая формулировку рабочей гипотезы, разработка общей концепции и дизайна диссертационного исследования, подготовка публикаций по теме диссертации проводилась автором совместно с научным руководителем д.м.н., доцентом О.В. Смирновой.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 30 работ, из них 12 статей в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК Минобразования и науки РФ, в том числе 1 патент РФ на изобретение.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста, иллюстрирована 22 рисунками, 9 таблицами. Работа состоит из введения, описания материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, заключения, выводов, списка использованных сокращений и использованной литературы. Список литературы состоит из 213 источников, в том числе 149 отечественных и 64 зарубежных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материалы исследования.** Объектом исследования были 209 обследуемых лиц. В основную группу вошли 84 больных с механической желтухой желчнокаменного генеза. Средний возраст составил  $44,02 \pm 14,88$  лет (от 30 до 69 лет). Контрольную группу составили 125 практически здоровых добровольцев.

**Методы исследования.** При исследовании иммунного статуса использовался метод непрямой иммунофлуоресценции лимфоцитов с использованием моноклональных антител к CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>. Уровни IgA, IgM, IgG, IgE, IL-2, IL-4, IL-10, IL-18, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  в сыворотке крови больных и здоровых лиц определяли ИФА. Спектрофотометрическим методом вычисляли содержание продуктов липопероксидации (малоновый диальдегид). Функциональную активность АОЗ определяли по содержанию основных ее компонентов (активности СОД, Кат, ГСТ, ГПО, содержанию ГЛ).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и Microsoft Excel, 2010 (Microsoft, США). Для оценки различий количественных показателей между группами использовали ранговый критерий Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ). Для анализа внутригрупповых взаимосвязей количественных признаков применяли метод Спирмена. Для выбора наиболее информативных лабораторных показателей был применен многофакторный дискриминантный анализ.

### **Результаты собственных исследований и их обсуждение.**

Эффективный иммунный ответ при механической желтухе зависит от слаженной работы всех его звеньев, при этом изменения клеточного звена играют важную роль. У больных с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л снижалось содержание лимфоцитов с фенотипом  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD16^+$ , что свидетельствовало о формировании недостаточности клеточно-эффекторного звена иммунитета у больных механической желтухой желчнокаменного генеза (таблица 1) [Squires, 2015]. Уменьшалось число клеток с маркером готовности к апоптозу ( $CD95^+$ -клетки), что указывает на длительность патологических процессов при механической желтухе [Pinhu, 2014]. У данных больных была выявлена гипергаммаглобулинемия по классу E с увеличением уровня относительного синтеза IgE ( $IgE/CD19^+$ ) и снижением уровней относительного синтеза IgA ( $IgA/CD19^+$ ), IgM ( $IgM/CD19^+$ ), IgG ( $IgG/CD19^+$ ), что дополнительно свидетельствует о нарушениях синтеза иммуноглобулинов в плазматических клетках. При содержании билирубина в крови менее 60 мкмоль/л были увеличены концентрации IL-2, IL-18 и уменьшено содержание IL-10, что указывает на нарушение цитокиновой регуляции в виде увеличения провоспалительных и снижения противовоспалительного цитокинов.

При уровне билирубина более 60 мкмоль/л число  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD16^+$ ,  $CD95^+$  клеток были снижены, а количество лимфоцитов с маркером ранней активации увеличены относительно контрольной группы. Была

выявлена гипергаммаглобулинемия по классам А и G, и были повышены уровни относительного синтеза IgA (IgA/CD19<sup>+</sup>), IgM (IgM/CD19<sup>+</sup>), IgG (IgG/CD19<sup>+</sup>). При этом содержания IL-10 и IL-4 понижены, а IL-2 и INF- $\gamma$  увеличены.

У больных с билирубином 60-200 мкмоль/л дополнительно обнаружили снижение числа HLA-DR<sup>+</sup>-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемия по классу M и повышение уровня TNF- $\alpha$ , а при величине билирубина более 200 мкмоль/л – гипогаммаглобулинемия по классу M. Разнонаправленный характер синтеза иммуноглобулинов плазматическими клетками при механической желтухе желчнокаменного генеза объясняется неспецифическим иммуносупрессорным воздействием на иммунную систему активационных гормонов стресса и других супрессорных факторов [Григорьева, 2016]. У больных выявлялся преимущественный Th1-механизм иммунного реагирования. Наибольшее количество измененных параметров в цитокиновой регуляции выявлялось в основной группе больных с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л; то есть антигенемия и интоксикация организма в данной группе были наиболее существенны. Пусковым фактором патогенеза механической желтухи является повышение внутрипротокового давления, что стимулирует выброс клетками Купфера цитокинов [Артемов, 2006; Дябкин, 2012]. Наиболее часто у больных с механической желтухой наблюдается снижение противовоспалительных цитокинов [Беляев, 2016] и преобладание провоспалительных [Гагуа, 2016;]. В организме человека развитие окислительного стресса характерно для многих заболеваний, в том числе для механической желтухи [Ступин, 2013; Jones, 2012]. У всех больных вне зависимости от уровня билирубина в эритроцитах были увеличены содержание МДА, активность ГПО, ГСТ и снижены активность Кат, уровень ГЛ. У больных с содержанием билирубина более 200 мкмоль/л активность СОД в эритроцитах снижалась. Проявления окислительного стресса обуславливаются длительностью механической желтухи, выраженностью интоксикации организма и зависят

от уровня билирубина. Усиление перекисного окисления липидов и дисфункция АОЗ увеличиваются с нарастанием билирубина в крови. Развивающийся на этом фоне дисбаланс в системе ПОЛ характеризуется повышением содержания вторичных продуктов окислительной модификации липидов – МДА, и увеличением активности ГСТ и ГПО при недостаточной выраженности антиокислительной активности СОД, Кат и ГЛ.

Для изучения внутри- и межсистемных отношений в группе сравнения практически здоровых людей и больных механической желтухой желчнокаменного генеза был проведен корреляционный анализ. В проведенном исследовании выявлено наличие у практически здоровых людей 14 положительных статистически значимых корреляционных связей, у больных с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л – 24; у больных с билирубином 60-200 мкмоль/л – 27; у больных с билирубином более 200 мкмоль/л – 32.

С помощью дискриминантного анализа были выявлены значимые параметры ПОЛ-АОЗ, иммунного ответа и цитокиновой регуляции при механической желтухе желчнокаменного генеза. Для больных с содержанием билирубина менее 60 мкмоль/л обнаруживалось снижение абсолютного количества CD3<sup>+</sup>-клеток, повышенное содержание IL-2 и сниженное IL-10, повышенный уровень МДА.

При величине билирубина 60-200 мкмоль/л сохранялось снижение абсолютного количества CD3<sup>+</sup>-, CD16<sup>+</sup>-клеток, повышенное содержание IL-2, TNF- $\alpha$  и сниженное IL-10, повышенный МДА, снижение активности Кат. Для больных с билирубином более 200 мкмоль/л выявлялось снижение абсолютного числа CD3<sup>+</sup>-, CD16<sup>+</sup>-клеток, увеличение уровня IgG и снижение IgM, увеличенное содержание IL-2 и сниженное IL-10, повышенный МДА, снижение активности Кат, СОД, увеличенная активность ГПО.

Таблица 1. Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных механической желтухой желчнокаменного генеза в зависимости от уровня билирубина

Показатели	Контрольная группа, N=125		Механическая желтуха желчнокаменного генеза с уровнем билирубина					
			менее 60 мкмоль/л, N=20		60-200 мкмоль/л, N=41		более 200 мкмоль/л, N=23	
	Me	Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub>	Me	Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub>	Me	Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub>	Me	Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub>
CD3 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	1,51	0,89-2,33	0,38	0,23-0,48	0,28	0,17-0,44	0,22	0,13-0,43
			p <sub>1</sub> =0,000004		p <sub>2</sub> =0,05*10 <sup>-13</sup>		p <sub>3</sub> =0,000005	
CD4 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,92	0,61-1,73	0,23	0,16-0,27	0,2	0,1-0,29	0,18	0,09-0,27
			p <sub>1</sub> =0,00001		p <sub>2</sub> =0,05*10 <sup>-11</sup>		p <sub>3</sub> =0,00005	
CD8 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,59	0,37-1,21	0,19	0,07-0,34	0,19	0,08-0,26	0,12	0,09-0,23
			p <sub>1</sub> =0,00006		p <sub>2</sub> =0,01*10 <sup>-8</sup>		p <sub>3</sub> =0,00002	
CD95 <sup>+</sup> , (10 <sup>9</sup> /л)	0,92	0,59-1,43	0,2	0,04-0,24	0,18	0,07-0,29	0,12	0,07-0,18
			p <sub>1</sub> =0,00056		p <sub>2</sub> =0,0003		p <sub>3</sub> =0,0001	
IgA, (г/л)	2,2	1,32-3,25	1,35	0,24-3,4	4	1,63-4,45	4,7	1,33-6,74
			p <sub>1</sub> =0,06		p <sub>2</sub> =0,06*10 <sup>-12</sup>		p <sub>3</sub> =0,01	
IgM, (г/л)	1,1	0,55-1,69	0,8	0,2-3,7	1,2	0,4-2,8	1	0,24-2,68
			p <sub>1</sub> =0,06		p <sub>2</sub> =0,05*10 <sup>-12</sup>		p <sub>3</sub> =0,000001	
IgG, (г/л)	10,0	7,0-15,0	7,5	1,2-25,1	20,32	5,4-25,8	15,14	4,63-26,7
			p <sub>1</sub> =0,06		p <sub>2</sub> =0,06*10 <sup>-12</sup>		p <sub>3</sub> =0,000007	
IgE, (МЕ/мл)	54,0	13,0-78,0	143,46	45,2-274,2	110	45,5-452,63	105	34,6-311,72
			p <sub>1</sub> =0,0002		p <sub>2</sub> =0,000001		p <sub>3</sub> =0,00009	

Примечание: p<sub>1</sub> – значимость различий при сравнении группы больных с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л и контрольной группы, p<sub>2</sub> – значимость различий при сравнении группы больных с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л и контрольной группы, p<sub>3</sub> – значимость различий при сравнении группы больных с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л и контрольной группы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с механической желтухой желчнокаменного генеза развивается Т-клеточное иммунодефицитное состояние с дисбалансом гуморального звена иммунитета, с преобладанием Th1-реакций иммунного реагирования, усилением перекисного окисления липидов с дисфункцией АОЗ, которое зависит от уровня билирубина.

Согласно полученным данным многофакторного дискриминантного анализа, наиболее значимыми показателями у больных с концентрацией билирубина менее 60 мкмоль/л, являлись: IL-10 ( $p < 0,001$ ), IL-2 ( $p < 0,001$ ), МДА ( $p < 0,001$ ) и CD3<sup>+</sup>-клетки ( $p < 0,02$ ); в группе больных с билирубином 60-200 мкмоль/л – TNF $\alpha$  ( $p < 0,005$ ), CD16<sup>+</sup>-клетки ( $p < 0,01$ ), CD3<sup>+</sup>-клетки ( $p < 0,01$ ), IL-10 ( $p < 0,000004$ ), МДА ( $p < 0,0004$ ), IL-2 ( $p < 0,001$ ) и Кат ( $p < 0,01$ ); при билирубине более 200 мкмоль/л -IgG ( $p < 0,005$ ), CD3<sup>+</sup>-клетки ( $p < 0,01$ ), CD16<sup>+</sup>-клетки ( $p < 0,02$ ), IL-10 ( $p < 0,001$ ), МДА ( $p < 0,001$ ), IL-2 ( $p < 0,000002$ ), СОД ( $p < 0,015$ ), Кат ( $p < 0,01$ ), IgM ( $p < 0,003$ ), ГПО ( $p < 0,003$ ).

На основании проведенного исследования была разработана патогенетическая схема развития нарушений в системах иммунной регуляции и ПОЛ-АОЗ при механической желтухе желчнокаменного генеза (рис. 1). Гипербилирубинемия при механической желтухе желчнокаменного генеза сочетается с изменением клеточного звена иммунитета в виде снижения CD3<sup>+</sup>-, CD16<sup>+</sup> - лимфоцитов, гуморального звена иммунитета – уменьшения уровня IgM и увеличения IgG, цитокиновой регуляции – снижением интерлейкина 10, повышением ИЛ-2 и TNF- $\alpha$ . В эритроцитах обнаруживается усиление ПОЛ в виде увеличения МДА, угнетение антиокислительной активности СОД и Кат и увеличение активности ГПО.

Выявленные в ходе исследования патофизиологические закономерности развития механической желтухи являются следствием взаимообусловленного влияния обструкции желчевыводящих протоков, действия токсикантов, системной и местной воспалительной реакции, измененной иммунной регуляции, усиления ПОЛ с дисфункцией АОЗ.

## ВЫВОДЫ

1. У больных механической желтухой желчнокаменного генеза выявлены зависимые от уровня билирубина в крови нарушения реактивности клеточного иммунитета, проявляющиеся в развитии Т-клеточного иммунодефицита, при котором происходит уменьшение рап-маркеров Т-лимфоцитов, формирование функциональной недостаточности клеточно-эффекторного звена, хелперной и цитотоксической активности, увеличение лейко-Т- и лейко-В-клеточного индексов, числа активированных лимфоцитов.
2. У больных механической желтухой желчнокаменного генеза отмечаются нарушения в гуморальном звене иммунитета, характеризующиеся разнонаправленным изменением показателей общих иммуноглобулинов классов А, М, G и Е и их соотношения  $IgA/CD19^+$ ,  $IgM/CD19^+$ ,  $IgG/CD19^+$  и  $IgE/CD19^+$ . В группе больных с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л формируется гипергаммаглобулинемия по классу Е и его относительного синтеза; в группе больных с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л – гипергаммаглобулинемия по  $IgA$ ,  $IgM$ ,  $IgG$ ,  $IgE$  с увеличением их относительного синтеза; в группе больных с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л – гипергаммаглобулинемия по  $IgA$ ,  $IgG$  и  $IgE$ , гипогаммаглобулинемия по  $IgM$  и увеличением их относительного синтеза.
3. Механическая желтуха желчнокаменного генеза характеризуется дисбалансом продукции про- и противовоспалительных цитокинов с девиацией клеточного иммунного ответа по Th1-типу, что проявляется в группах больных с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л увеличением  $IL-2$ ,  $IL-18$  и уменьшением  $IL-10$ ; с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л и более 200 мкмоль/л – увеличением  $TNF-\alpha$ ,  $IL-2$ ,  $INF-\gamma$  и уменьшением  $IL-10$  и  $IL-4$ .
4. У больных механической желтухой желчнокаменного генеза развитие воспалительного процесса поддерживается дисбалансом системы ПОЛ-

АОЗ, степень выраженности которого зависит от уровня билирубина и характеризуется в обследуемых группах больных увеличением вторичных продуктов окислительной модификации липидов – МДА, активности глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы при недостаточной выраженности антиокислительной активности супероксиддисмутазы, каталазы и восстановленного глутатиона.

5. В группах больных механической желтухой желчнокаменного генеза отмечается ослабление большинства корреляционных зависимостей параметров клеточного и гуморального звеньев иммунитета, перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты с преобладанием связей положительной направленности. Количество корреляционных взаимодействий увеличивается с уровнем гипербилирубинемии, что свидетельствует о напряжении систем иммунной и ПОЛ-АОЗ регуляции воспалительного ответа.
6. Разработаны прогностические модели развития механической желтухи желчнокаменного генеза, включающие следующие предикторы в группах больных: с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л – CD3<sup>+</sup>-клетки, IL-10, IL-2 и МДА; с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л – CD16<sup>+</sup>-клетки, CD3<sup>+</sup>-клетки, TNF $\alpha$ , IL-2, IL-10, МДА и каталаза; с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л. – IgM, IgG, CD3<sup>+</sup>-клетки, CD16<sup>+</sup>-клетки, IL-10, IL-2, МДА, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза.

#### Список работ

**Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых изданиях,  
рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства  
образования и науки Российской Федерации**

1. Смирнова О.В. Особенности клеточного звена иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного генеза в зависимости от уровня билирубина / Смирнова О.В., Титова Н.М., Манчук В.Т., Елманова Н.Г.,

Кочетова Л.В. Пахомова Р.А. // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – №2-10. – С. 2174-2179.

2. Смирнова О.В. Особенности цитокиновой регуляции у больных механической желтухой различного генеза / Смирнова О.В., Титова Н.М., Манчук В.Т., Елманова Н.Г. // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 4. – С. 425.

3. Смирнова О.В. Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов больных механической желтухой доброкачественного генеза/ Смирнова О.В., Титова Н.М., Елманова Н.Г. // *Российский иммунологический журнал*. – 2015. – Т.9(18). – №2(1). – С.313-315.

4. Смирнова О.В. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов в прогрессировании механической желтухи в зависимости от уровня билирубина и генеза желтухи / Смирнова О.В., Титова Н.М., Каспаров Э.В., Елманова Н.Г. // *Медицинская иммунология*. – 2016. – Т.18. – №3. – С. 269-278.

5. Смирнова О.В. Характеристика цитокиновой регуляции у больных с синдромом механической желтухи доброкачественного, доброкачественного опухолевого и злокачественного генезов / Смирнова О.В., Титова Н.М., Каспаров Э.В., Елманова Н.Г. // *В мире научных открытий*. – 2016. – №11 (83) . – с. 27-41.

6. Елманова Н.Г. Особенности вторичного иммунодефицита при механической желтухи доброкачественного генеза/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. // *Российский аллергологический журнал*. – 2018. – Т. 2, № 1-2. – С.28-30.

7. Smirnova O. Indicators of the humoral immunity in the mechanical jaundice of benign genesis/ Smirnova O., Elmanova N., Tereshchenko S. // *Allergy: European journal of allergy and clinical immunology, supplement*. – 2018. – № S105. – V. 73. – P.459-460.

8. Елманова Н.Г. Особенности антиоксидантной системы у больных с синдромом механической желтухи доброкачественного и злокачественного

генезов в динамике/ Елманова Н.Г.// Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, №6. – С. 916-920.

9. Smirnova O.V. Features of the functional activity of neutrophils in obstructive jaundice of cholelithiasis / Smirnova O.V., Elmanova N.G., Tereshchenko S.Y. // Allergy. – 2019. – № S106 . – V. (74). – P. TP0826 DOI: 10.1111/all.13961

10. Смирнова О.В. Особенности влияние препарата мексидол на активность ферментов антиоксидантной защиты при синдроме механической желтухи (ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ) / Смирнова О.В., Титова Н.М., Елманова Н.Г. // Терапия. – 2019. – № S. – С. 492-498.

11. Смирнова О.В. Состояние основных популяций лимфоцитов у больных механической желтухой желчнокаменного генеза в динамике / Смирнова О.В., Елманова Н.Г. // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2019. – Т. 11. № 5. – С. 134-139.

12. Елманова Н.Г. Состояние глутатионового звена антиоксидантной защиты больных механической желтухой желчнокаменного генеза / Елманова Н.Г., Смирнова О.В. // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2019. Т. 11. – № 5-2. – С. 45-49.

#### **Работы, опубликованные в прочих изданиях**

1. Елманова Н.Г. Особенности клеточного и гуморального иммунитета у больных механической желтухой/ Елманова Н.Г., Семенова Е.И., Смирнова О.В // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: 11-я межрегиональная научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2013. – С. 24-25.

2. Елманова Н.Г. Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных механической желтухой/ Елманова Н.Г, Семенова Е.И., Смирнова О.В. // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: 11-я межрегиональная научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2013. – С. 24-26.

3. Елманова Н.Г. Особенности антиоксидантной системы у больных механической желтухой/ Елманова Н.Г., Семенова Е.И., Смирнова О.В. // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: 11-я межрегиональная научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2013. – С. 26-27.
4. Елманова Н.Г. Параметры хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных механической желтухой в зависимости от степени тяжести/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М., Кочетова Л.В., Пахомова Р.А.// Вопросы сохранения и развития здоровья населения регионов Сибири: 12-я региональная научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2014. – С.68-69.
5. Елманова Н.Г. Оценка работы антиоксидантной системы крови у больных механической желтухой доброкачественного генеза/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М., Кочетова Л.В., Пахомова Р.А., Меркулова Е. Ю. // Вопросы сохранения и развития здоровья населения регионов Сибири: 12-я региональная научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2014. – С. 70-71.
6. Елманова Н.Г. Особенности клеточного иммунитета у больных механической желтухой в зависимости от степени тяжести/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М., Кочетова Л.В., Пахомова Р.А. // Вопросы сохранения и развития здоровья населения регионов Сибири: 12-я региональная научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2014. – С.46-48.
7. Елманова Н.Г. Особенности гуморального иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного генеза/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М., Кочетова Л.В., Пахомова Р.А. // Вопросы сохранения и развития здоровья населения регионов Сибири: 12-я региональная научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2014. – С. 48-49.

8. Елманова Н.Г. Параметры хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных механической желтухой различного генеза / Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: XIII научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2015. – С. 39-40.
9. Елманова Н.Г. Особенности клеточного иммунитета у больных механической желтухой опухолевого генеза/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: XIII научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2015. – С. 41-42.
10. Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных механической желтухой доброкачественного опухолевого генеза // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: XIV научно-практическая конференция молодых ученых. Красноярск, 2016. – С. 57
11. Елманова Н.Г. Особенности антиоксидантной системы крови больных механической желтухой доброкачественного опухолевого генеза/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: XIV научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2016. – С. 59.
12. Елманова Н.Г. Особенности гуморального иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного опухолевого генеза в динамике/ Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М.// Международная научно-техническая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Молодежь и наука: проспект Свободный 2016». – Красноярск. – 2016. – С. 17-18.
13. Елманова Н.Г. Особенности клеточного иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина более 200 мкмоль/л / Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. // Сложные

системы в экстремальных условиях: XVIII симпозиум. – Красноярск. – 2016. – С. 28.

14. Елманова Н.Г. Показатели хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина свыше 200 мкмоль/л / Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: XV научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск. – 2017. – С. 22.

15. Елманова Н.Г. Показатели гуморального звена иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина свыше 200 мкмоль/л / Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М.// Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: XV научно-практическая конференция молодых ученых. – Красноярск.– 2017. – С. 24.

16. Елманова Н.Г. Показатели хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина менее 60 мкмоль/л / Елманова Н.Г., Смирнова О.В.// Наука, промышленность, экология: VII Молодежная школа-конференция. Пос. Жемчужный. – 2017. – С. 15.

17. Елманова Н.Г. Параметры гуморального иммунитета у больных механической желтухой доброкачественного генеза с уровнем билирубина 60-200 мкмоль/л / Елманова Н.Г., Смирнова О.В., Титова Н.М. // XXI конференция молодых ученых КНЦ СО РАН. – Красноярск. – 2018. – С. 12.

Патент:

Патент № RU 2677468 от 17.01.2019 Рос. Фед.: Способ прогнозирования тяжелого течения механической желтухи доброкачественного генеза / Смирнова О.В., Каспаров Э.В., Елманова Н.Г.// заявитель и патентообладатель: НИИ медицинских проблем Севера (НИИ МПС) – обособленного подразделения федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр

«Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН) (г. Красноярск).

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОЗ – антиоксидантная защита

ГЛ – восстановленный глутатион

ГПО – глутатион пероксидаза

ГСТ – глутатион-S-трансфераза

ЖКБ – желчнокаменная болезнь

ИФА – иммуноферментный анализ

Кат – каталаза

МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СОД – супероксиддисмутаза

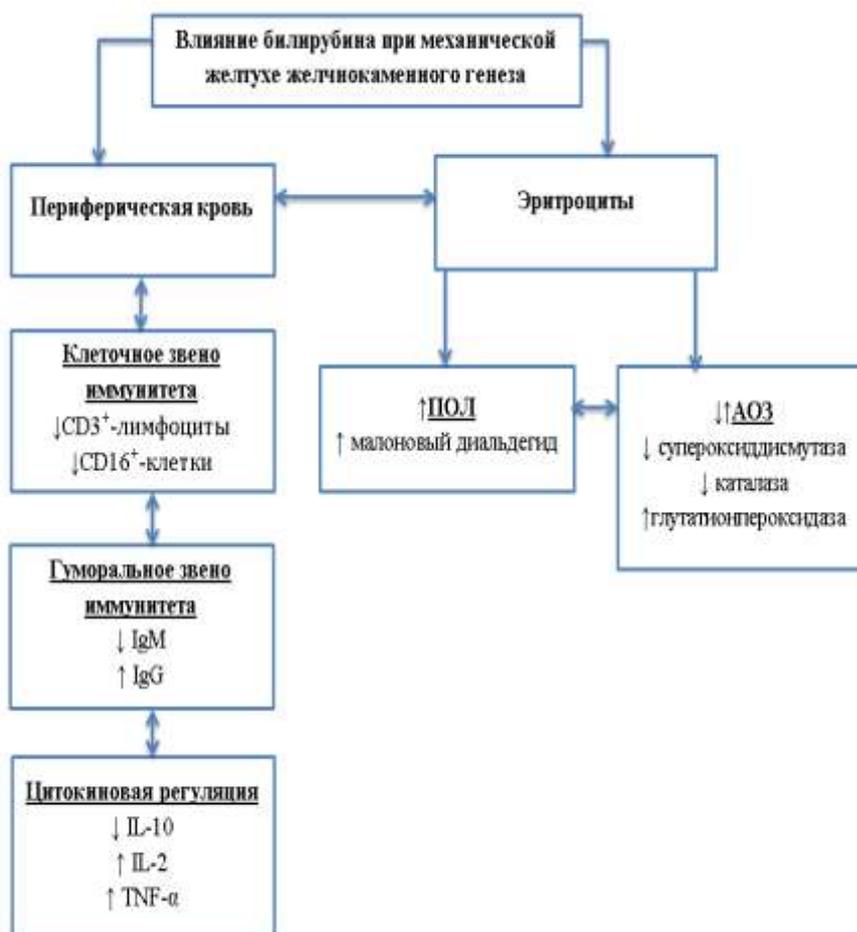


Рисунок 1 – Схема патофизиологических изменений иммунной системы, ПОЛ-АОЗ при механической желтухе желчнокаменного генеза.