

В-лимфоцитов ( $CD19^+IgD^-27^+$ ) и содержанием непереключенных  $CD19^+IgD^+27^+$  клеток памяти ( $r_s = 0,766$ ;  $p < 0,001$ ), а также с количеством  $CD19^+IgD^+27^-$  наивных В-клеток ( $r_s = -0,511$ ;  $p = 0,01$ ).

Одновременно у пациентов с содержанием  $CD19^+IgD^-27^+$  В-клеток памяти менее 5 % уровень IgG и суммарная концентрация сывороточных иммуноглобулинов А, М и G оказались значимо ниже, чем в 1-й подгруппе пациентов ( $p = 0,006$  и  $p = 0,007$  соответственно).

#### **Выводы**

1. У пациентов с ОВИН выявлены разнонаправленные изменения количества В-лимфоцитов в периферической крови (процентное содержание  $CD19^+$ -клеток снижалось у 56 % пациентов, увеличивалось — 16 и в 28 % случаев сохранялось в пределах референтных значений).

2. Нарушение дифференцировки В-клеток памяти в виде уменьшения количества изотип-переключенных лимфоцитов ( $CD19^+IgD^-27^+$ ) наблюдалось у 96 % пациентов с ОВИН.

3. Только у больных с выраженным угнетением  $CD19^+IgD^-27^+$  В-лимфоцитов памяти (менее 5 %) отмечалось снижение содержания непереключенных  $CD19^+IgD^+27^+$  В-клеток памяти ( $p = 0,01$ ) и повышение количества  $CD19^+IgD^+27^-$  наивных В-лимфоцитов памяти ( $p = 0,001$ ).

4. Максимальная степень снижения уровня IgG и суммарной концентрации сывороточных иммуноглобулинов А, М и G наблюдалась у пациентов с количеством  $CD19^+IgD^-27^+$  изотип-переключенных В-клеток памяти менее 5 %.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. *Cunningham-Rundles, C. Common Variable Immune Deficiency: Dissection of the Variable / C. Cunningham-Rundles // Immunol Rev. — 2019. — Vol. 287, № 1. — P. 145–161.*
2. *Прокопович, С. С. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с общей вариабельной иммунологической недостаточностью / С. С. Прокопович, И. А. Новикова, А. П. Саливончик // Проблемы здоровья и экологии. — Гомель. — 2020. — № 2 (64). — С. 52–57.*
3. *Diagnostic tools for inborn errors of human immunity (primary immunodeficiencies and immune dysregulatory diseases) / A. Richardson [et al.] // Curr Allergy Asthma Rep. — 2018. — Vol. 18, № 19. — P. 1–16.*
4. *Changes in B cell immunophenotype in common variable immunodeficiency: cause or effect — is bronchiectasis indicative of undiagnosed immunodeficiency? / P. Bright [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. — 2012. — Vol. 171. — P. 195–200.*

**УДК 616.36-006-099-036.12-092.9**

## **ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИЗОФОРМ ПИРУВАТКИНАЗЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС ЛИНИИ WISTAR**

*Шафорост А. С., Зяцьков А. А., Голубых Н. М.*

**Учреждение образования**

**«Гомельский государственный медицинский университет»**

**г. Гомель, Республика Беларусь**

#### **Введение**

Лечение больных с необратимыми поражениями печени, которые образуются в результате развития вирусной инфекции, хронической алкогольной интоксикации, механических травм и в процессе старения, остается актуальной проблемой современной медицины. По данным ВОЗ в мире проживает около 328 млн пациентов с хронической формой гепатита В и С [1]. Основным методом лечения подобных заболеваний при этом является пересадка печени, доступ к которой ограничен из-за недостатка донорских органов.

Поиск механизмов управления процессами регенерации является перспективной задачей, решение которой позволит получить мощный инструмент для лечения заболе-

ваний сопровождающихся органическими поражениями тканей. С учетом вышеперечисленных фактов, особый интерес в аспекте изучения процессов регенерации печени при токсических поражениях представляет определение изоформ фермента пируваткиназы на различных стадиях процесса восстановления.

### **Цель**

Изучить влияние хронического токсического действия  $CCl_4$  на концентрацию изоформ пируваткиназы в сыворотке лабораторных крыс линии Wistar.

### **Материал и методы исследования**

Для эксперимента использовали лабораторных крыс линии Wistar стадного разведения в возрасте 8 недель. Животных содержали группами по 5–6 особей в клетке в стандартных условиях вивария Учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» и получали стандартный рацион и воду ad libitum. Все работы были выполнены в соответствии с правилами проведения работ с использованием лабораторных животных в научных исследованиях.

Хроническое токсическое повреждение печени индуцировали путем внутрибрюшинного введения 50 % раствора  $CCl_4$  в оливковом масле (La Espanola, Испания) в количестве 0,1 мл/100г веса животного [2]. Инъекции выполняли 2 раза в неделю на протяжении 10 недель.

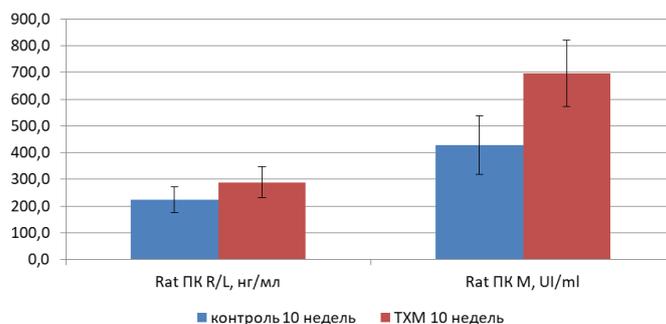
Были сформированы следующие экспериментальные группы: группа 1 (n = 7) — интактный контроль (10 недель), инъекция 1хPBS 0,1 мл/100 г веса животного; группа 2 (n = 7) — эксперимент (10 недель), инъекция 30 % раствора  $CCl_4$  0,1 мл/100 г веса животного.

Вывод из эксперимента проводили через 7 суток после последней инъекции  $CCl_4$  путем передозировки хлороформным наркозом. По завершению эксперимента образцы сыворотки крови и биоптатов печени замораживали и хранили при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Определение изоформ пируваткиназы проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА).

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

Пируваткиназа (ПК) является важным ферментом обеспечивающим превращение фосфоенолпирувата в пируват сопровождающееся образованием АТФ на заключительном этапе гликолиза. Существуют 4 изоформы данного белка — L, R, M1 и M2. Изоформы L и R кодируются геном PKLR, который расположен в длинном плече 1-й хромосомы (1q22). Пируваткиназа L преимущественно экспрессируется в печени, но также встречается в почках, тонком кишечнике и  $\beta$ -клетках поджелудочной железы. Синтез изоформы R является отличительной особенностью эритроцитов [3]. Изоформы M1 и M2 кодируются геном PKM2, который расположен в длинном плече 15-й хромосомы (15q23). Пируваткиназа M1 преимущественно экспрессируется в скелетных мышцах, сердце и мозге, а M2 в эмбриональных тканях, большинстве взрослых тканей с высоким уровнем синтеза нуклеиновых кислот и опухолевых клетках [4].

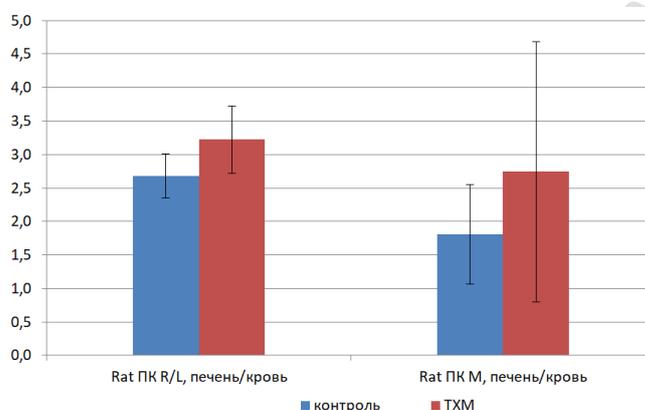
В результате проведения исследований содержания изоформ пируваткиназы R/L и M в сыворотке крови были получены данные представленные на рисунке 1.



**Рисунок 1 — Значения концентрации изоформ пируваткиназы R/L и M в сыворотке крови крыс линии Wistar**

С помощью метода ИФА невозможно определить содержание отдельных изоформ пируваткиназы: данный метод позволяет измерить суммарную концентрацию изоферментов кодируемых одним геном. Анализ значений концентрации пируваткиназы R/L показывает, что при хроническом токсическом воздействии  $CCl_4$  в течении 10 недель наблюдается увеличение исследуемого параметра в экспериментальной группе на 29,5 % по сравнению с контролем ( $223,8 \pm 48,4$  нг/мл). Таким образом, можно отметить, что изучаемый гепатотоксический агент при длительном действии оказывает незначительное влияние на интенсивность протекания финальной реакции гликолиза, катализируемой пируваткиназой R/L. Более значительные отличия между сравниваемыми группами наблюдаются в случае изоформы пируваткиназы M: хроническое введение тетрахлорметана приводит к увеличению активности фермента на 62,9 % ( $p < 0,01$ ) по отношению к интактному контролю того же возраста ( $427,8 \pm 110,0$  UI/мл). Указанный факт может свидетельствовать о стимуляции деления гепатоцитов в ответ на хроническое токсическое воздействие.

Помимо этого была изучена связь между концентрацией изоформ R/L и M пируваткиназы в сыворотке крови и биоптатах печени (рисунок 2).



**Рисунок 2 — Отношения концентрации изоформ пируваткиназы R/L и M в сыворотке крови и ткани печени крыс линии Wistar**

Проведенные расчеты показывают, что концентрация пируваткиназы R/L в печени в 2,68–3,22 раза выше, а для пируваткиназы M — в 1,81–2,74 раза выше, чем в сыворотке крови. Сравнение значений полученного показателя не выявило различий между интактным контролем и животными, которые подвергались хроническому токсическому воздействию тетрахлорметана.

#### **Заключение**

Длительное (10 недель) введение 50 % раствора  $CCl_4$  приводит к увеличению на 62,9 % концентрации пируваткиназы M в сыворотке крови крыс линии Wistar, что может быть вызвано усилением процессов регенерации печени. Определение изоформ пируваткиназы может быть важным параметром для оценки регенеративного потенциала печени. Анализ данных о содержании изоформ пируваткиназы в сыворотке крови и ткани печени, показал высокую степень их соответствия. Таким образом, в дальнейшем в рамках повышения доли неинвазивных методов, возможно проведение экспериментов с использованием только сыворотки крови.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. ВОЗ. Глобальный доклад по гепатиту, 2017 г. [Электронный ресурс] / WHO. — Режим доступа: <http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017-executive-summary/ru/>. — Дата доступа: 24.09.2020.
2. Скуратов, Г. Тетрахлорметановая модель гепатита и цирроза печени у крыс / Г. Скуратов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2012. — № 9. — С. 37–40.
3. Pyruvate kinase L/R is a regulator of lipid metabolism and mitochondrial function / Z. Liu [et al.] // Metab. Eng. — 2019. — Vol. 52. — P.263-272.
4. Muirhead, H. Isoenzymes of pyruvate kinase / H. Muirhead // Biochem. Soc. Trans. — 1990. — Vol. 18, № 2. — P. 193–196.