

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В ПЕЧЕНИ ПРИ ЕЕ ДИФфуЗНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ И ВВЕДЕНИИ ГЕПТОРА

Альпидовская О.В.

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Резюме. Хронические диффузные болезни печени являются одной из актуальных проблем в современном мире. В качестве модели для воспроизведения патологии печени было использовано воздействие табачного дыма. Цель исследования – оценить уровень цитокинов – IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1 на модели табачной интоксикации и при введении Гептора в течение 7-го, 14-го, 21-го дня. Исследования проводились на крысах-самцах, разделенных на интактных и 3 опытные группы по 10 крыс в каждой. В течение одного, двух и четырех месяцев животные находились в табачном дыме. Для опытов применялась камера – V = 0,3 м³, в которой происходило задымление при сгорании сигарет. После четырехмесячного воздействия (3-я группа) вводили *per os* Гептор в дозе 120 мг/кг с дистиллированной водой на 7-й, 14-й, 21-й день. После выведения животных из эксперимента брались образцы печени для изучения уровня цитокинов и готовились срезы, которые окрашивались гематоксилином и эозином. В 1-й группе в печени выявлялась воспалительная клеточная инфильтрация, дистрофические изменения, фиброз отсутствовал. Во 2-й группе в печени помимо кровоизлияний, дистрофических изменений отмечались некробиотические очаги, фиброз отсутствовал. В 3-й группе определялись деструктивные изменения, участки некроза в печени, портопортальные и портоцентральные септы. Уровень TNF α повысился в цитоплазматической фракции ткани печени в 1-й группе в 1,6 раза по сравнению с интактной группой, во 2-й группе – увеличился в 1,7 раза, в 3-й группе – увеличился в 1,9 раза. Концентрация IL-6 отмечалась самой высокой в 3-й группе. TGF- β 1 зачимо увеличился в этот же срок, гистологически выявлялись деструктивные изменения и фиброз в печени. Использование препарата Гептор в течение 21 дня у животных 3-й группы способствовало снижению уровня провоспалительных цитокинов IL-18, IL-6, IFN γ в ткани печени и TNF α , TGF- β . Вследствие их воздействия отмечалось уменьшение воспалительной реакции, деструктивных изменений и степени фиброза, развивалось постепенное восстановление структурной организации печени.

Ключевые слова: IL-6, IL-1 α , IL-18, TNF α , IFN γ , TGF- β 1, табачная интоксикация, Гептор

Адрес для переписки:

Альпидовская Ольга Васильевна
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный
университет имени И.Н. Ульянова»
428015, Россия, г. Чебоксары, Чувашская Республика,
Московский пр., 45.
Тел.: 8 (927) 858-05-18.
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Address for correspondence:

Olga V. Alpidovskaya
I. Ulyanov Chuvash State University
45 Moskovsky Ave
Cheboksary, Chuvash Republic
428015 Russian Federation
Phone: +7 (927) 858-05-18.
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Альпидовская «Цитокиновый профиль в печени при ее диффузном повреждении и введении Гептора» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 451-456. doi: 10.15789/1563-0625-CPI-3017

© Альпидовская О.В., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Alpidovskaya "Cytokine profile in the liver during its diffuse damage and Heptor introduction", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 451-456.
doi: 10.15789/1563-0625-CPI-3017

© Alpidovskaya O.V., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-CPI-3017

CYTOKINE PROFILE IN THE LIVER DURING ITS DIFFUSE DAMAGE AND HEPTOR INTRODUCTION

Alpidovskaya O.V.

I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Abstract. Chronic diffuse liver diseases are among urgent problems in the modern world. Exposure to tobacco smoke was used as a model to reproduce liver pathology. The purpose of the study was to evaluate the level of cytokines, i.e., IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1 in an animal model of tobacco intoxication, with administration of Heptor substance for 7, 14, 21 days. The studies were carried out on male rats, divided into intact and 3 experimental groups of 10 rats each. The animals were exposed to tobacco smoke for one, two and four months. For the experiments, a chamber was used with a volume of 0.3 m³, in which the cigarette smoke was produced. After four months of exposure (3rd group), Heptor was administered *per os* at a dose of 120 mg/kg with distilled water for 7, 14, 21 days. After withdrawal from experiment, the liver specimens were sampled, in order to study the level of cytokines. Liver sections were also prepared and stained with Hematoxylin/Eosin. In group 1, inflammatory cell infiltration and degenerative changes were detected in the liver; fibrosis was absent. In the 2nd group, necrobiotic foci were noted in the liver along with hemorrhages and dystrophic changes; fibrosis was absent. In the 3rd group, destructive changes, areas of necrosis in the liver, porto-portal and porto-central septa were observed. The level of TNF α was 1.6 times increased in the cytoplasmic fraction of liver tissue in the 1st group compared to the intact group; in the 2nd group it was 1.7 times higher; in the 3rd group it increased by 1.9 times. The concentration of IL-6 was the highest in the group 3. At these terms, TGF- β 1 was significantly increased, with destructive changes and liver fibrosis being detected by histology. The use of the drug Heptor for 21 days in animals of the third group contributed to decreased levels of pro-inflammatory cytokines (IL-18, IL-6, IFN γ) in liver tissue, along with reduced TNF α and TGF- β . As a result of their influence, a decrease in the inflammatory response, destructive changes and lower degree of fibrosis was noted, as well as gradual restoration of the liver structures was developed.

Keywords: IL-6, IL-1 α , IL-18, TNF α , IFN γ , TGF- β 1, tobacco intoxication, Heptor

Введение

Хронические диффузные болезни печени являются одной из актуальных проблем в современном мире. Течение и прогноз при данной патологии определяются состоянием иммунного статуса. На всех этапах иммунного ответа участвуют цитокины или медиаторы воспаления, регулирующие иммунный ответ, регенерацию, апоптоз, воспаление, пролиферацию и фиброгенез [1, 2, 3, 4]. Каскадный механизм действия цитокинов объясняется индукцией выработки одним цитокином другого, а также синергизмом во взаимодействии. В последние годы интенсивно изучается роль цитокинов в патогенезе хронических гепатитов и циррозов печени [5, 6, 7]. Изучение цитокинового профиля при хронических диффузных болезнях печени имеет важное значение для прогноза, так как уровень цитокинов отражает интенсивность регенераторных процессов в печени и прогрессирование болезни [6, 7, 8, 9]. Существуют цитокины: а) провоспалительные

(IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IFN γ); б) противовоспалительные (IL-4, IL-10, TGF); в) регулирующие клеточный иммунитет (IL-1, IL-12 IFN γ , TGF- β); г) регулирующие гуморальный иммунитет (IL-4, IL-5, IFN γ , трансформирующий фактор роста- β). В связи с этим является актуальным изучение механизмов повреждения, цитокиновый профиль в печени и возможная терапия под влиянием Гептора® (ademetionine) является многокомпонентным универсальным препаратом, обладает заметным воздействием на фактор некроза опухоли [2], этот цитокин во многом определяющий воспалительный процесс и являющийся главным агентом, приводящим к воспалительной реакции, деструктивным изменениям и некрозу. Помимо этого подавляет активность провоспалительных цитокинов. Препарат оказывает влияние на клетки Купфера и рекрутированные макрофаги, что подавляет синтез TGF- β . Также препарат обладает детоксикационными, антиоксидантными свойствами. Цель исследования —

оценить уровень цитокинов — IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1 на модели табачной интоксикации и при введении Гептора® в течение 7-го, 14-го, 21-го дня.

Материалы и методы

Исследования проводились на крысах-самцах, которых разделили на интактную и 3 опытные группы по 10 крыс в каждой. В течение одного (1-я группа), двух (2-я группа) и четырех (3-я группа) месяцев животные находились в табачном дыме (два раза в день по 5 крыс в одной клетке). Для опытов применялась камера — V = 0,3 м³, в которой происходило задымление при сгорании сигарет. 3-й опытной группе (крысы находились в затравочной камере четыре месяца) вводили *per os* Гептор®, МНН: адеметионин (форма выпуска: таблетки) в дозе 120 мг/кг с дистиллированной водой на 7-й, 14-й, 21-й день. Контрольная группа соответствовала количеству опытных животных. После выведения животных из эксперимента брались образцы печени для определения уровня цитокинов и готовились срезы, которые окрашивались гематоксилином и эозином.

Проводилась оценка уровня цитокинов в печени: IL-6, IL-18, IL-1 α , IFN γ , TNF α , TGF- β 1. После извлечения печень промывалась и помещалась в фосфатно-солевой буфер (PBS) с pH 7,6 (ООО «Эко-Сервис», Россия) из расчета 1 мл раствора на 1 мг органа. Все процедуры проводили на льду для предотвращения протеолиза. Ткань дезагрегировали с использованием автоматизированной системы для дезагрегации тканей BD Medimachine (Becton Dickinson, США). Суспензию пропускали через фильтр falcon, BD Bioscience, размером пор 50 мкм, затем центрифугировали 30 минут при 4 °C и 15000 оборотах в минуту, собирали супернатант и разводили в 2 раза PBS. Полученный супернатант распределяли по 200 мкл в микроцентрифужные пробирки типа «Эппендорф», замораживали и хранили до использования при -80 °C. Концентрацию цитокинов в гомогенатах печени определяли методом ИФА согласно стандартным протоколам (наборы и приборы Lazurite Automated Elisa System).

Этическая экспертиза

Эксперименты основывали на принципах гуманности, изложенных в Директиве Совета Европейского Союза (86/609/ЕЭС), а также в ГОСТ Р 53434-2009 от 1 марта 2010 г. «Принципы надлежащей лабораторной практики» (идентичен GLP OECD). Проведение эксперимента одобрено этическим комитетом Марийского го-

сударственного университета (протокол № 1 от 28.04.2023 г.).

Статистическая обработка проводилась в программе Statistica-10 (StatSoft Inc., США). Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программного обеспечения OriginPro 2018 software (OriginLab Corporation, США) с применением непараметрического критерия Краскела–Уоллиса для множественных сравнений (непараметрический метод сравнения трех или более независимых групп).

Результаты

У животных 1-й группы отмечалось полнокровие сосудов, воспалительная клеточная инфильтрация, дистрофические изменения, отсутствовала соединительная ткань. При анализе цитокинового профиля в цитоплазматической фракции ткани печени отмечалось статистически значимое повышение уровня IFN γ и IL-6, что очевидно способствует миграции лейкоцитов в поврежденные зоны. Показатели TNF α и TGF- β 1 также изменились (табл. 1).

Во 2-й группе в печени помимо кровоизлияний, дистрофических изменений отмечались некробиотические очаги. Отмечалось отсутствие фиброза. Уровень IL-18 повысился (табл. 1), что способствует усилению провоспалительного иммунного ответа, повышая концентрацию TNF α и IL-1 α . IL-18 сигнализирует гепатоцитам в поврежденной печени о продукции белков острой фазы.

В 3-й группе определялись деструктивные изменения, участки некроза в печени, портопортальные и портоцентральные септы. Значимо повысился уровень TGF- β 1, концентрация IL-18 оставалась высокой (табл. 1). IL-18 является мощным индуктором выработки IFN γ Т-клетками и НК-клетками и действует как костимулирующий фактор для активации Т-клеток.

После приема препарата Гептор® в 3-й группе отмечалось увеличение IL-1 α и уменьшение IL-6, IFN γ , TGF- β 1. Гистологически у животных отмечалось уменьшение выраженности фиброза. По данным М. Pach wka и соавт. [9], IL-6 играет ключевую роль в регенерации печени. В эксперименте было показано, что в течение нескольких часов после частичной гепатэктомии увеличивалась концентрация большого количества цитокинов в гепатоцитах. Среди них важную функцию в восстановлении играет IL-6.

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 1. CONTENT OF CYTOKINES IN THE CYTOPLASMIC FRACTION OF THE LIVER OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Опытные животные Experienced animals	TNF α , пг/мл TNF α , pg/mL	IL-6, пг/мл IL-6, pg/mL	IL-1 α , пг/мл IL-1 α , pg/mL	IL-18, пг/мл IL-18, pg/mL	IFN γ , пг/мл IFN γ , pg/mL	TGF- β 1, пг/мл TGF- β 1, pg/mL
Интактная группа Intact group	689,3 $\pm$ 44,9	31,44 $\pm$ 3,70	941,2 $\pm$ 77,3	552,3 $\pm$ 19,4	929,3 $\pm$ 83,5	821,2 $\pm$ 18,5
1-я группа 1 st group	1087,8 $\pm$ 56,2	45,7 $\pm$ 4,4 ^a	1144,64 $\pm$ 84,10	589,9 $\pm$ 27,3	1211,2 $\pm$ 79,8	568,4 $\pm$ 16,9
2-я группа 2 nd group	1166,3 $\pm$ 136,2	37,4 $\pm$ 8,5	1288,8 $\pm$ 41,3 ^a	781,1 $\pm$ 44,2 ^{a, e}	861,56 $\pm$ 51,20 ^b	763,9 $\pm$ 17,7
3-я группа 3 rd group	1276,2 $\pm$ 89,7 ^a	13,5 $\pm$ 2,3 ^{a, b, e, f}	1422,55 $\pm$ 98,30 ^{a, e}	612,5 $\pm$ 20,7	681,4 $\pm$ 63,8 ^b	1524,8 $\pm$ 23,7
Введение Гептора® течение 7 дней Administration of Heptor® for 7 days	1188,9 $\pm$ 145,1	29,7 $\pm$ 2,1 ^b	956,7 $\pm$ 89,7	534,1 $\pm$ 23,4	846,3 $\pm$ 78,4 ^b	1314,5 $\pm$ 21,9
Введение Гептора® течение 14 дней Administration of Heptor® for 14 days	1472,6 $\pm$ 234,2	79,4 $\pm$ 1,9 ^{a, b, e}	1712,8 $\pm$ 121,5 ^{a, c, e}	744,6 $\pm$ 39,6 ^{a, e}	681,2 $\pm$ 18,7 ^{a, b, c}	1277,8 $\pm$ 19,9
Введение Гептора® в течение 21 дня Administration of Heptor® for 21 days	1142,1 $\pm$ 68,3	9,2 $\pm$ 1,1 ^{a, b, c, e, f}	1389,9 $\pm$ 103,1 ^{a, e}	581,9 $\pm$ 41,3 ^{c, f}	665,4 $\pm$ 41,1 ^{a, b, c}	946,0 $\pm$ 18,7

Примечание. TNF α (tumor necrosis factor alpha) – фактор некроза опухоли альфа, IL – интерлейкин, IFN γ (interferon gamma) – интерферон гамма, TGF- β 1 (transforming growth factor beta 1) – трансформирующий фактор роста; ^{a, b, c, d, e, f} – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с группой (a), (b), (c), (d), (e), (f).

Note. TNF α (tumor necrosis factor alpha), necrosis factor tumors alpha; IL, interleukin; IFN γ (interferon gamma), interferon gamma; TGF- β 1 (transforming growth factor beta 1), transforming growth factor; ^{a, b, c, d, e, f}, statistically significant differences ($p < 0.05$) with group (a), (b), (c), (d), (e), (f).

Обсуждение

После повреждения печени отмечались изменения уровня цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6, IL-18, а также факторов роста (TGF- β , TNF). IFN γ значительно увеличивает выработку медиаторов воспаления макрофагами. Клетки Купфера активированные IFN γ , экспрессируют провоспалительные цитокины (IL-6 и TNF α). Эти провоспалительные сигналы могут привести к усилению воспалительной реакции и повреждению печени. Значимо повысился уровень TGF- β в 3-й группе, без приема препарата Гептор®, гистологически отмечались альтеративные изменения в виде дистрофических и некротических изменений, фиброз (портопортальные и портоцентральные септы). Сигнальные пути, инициируемые TGF- β 1, играют важную роль в регуляции различных клеточных процессов: пролиферации, дифференцировке, миграции или гибели клеток [7, 8, 9].

Клетки Купфера, рекрутированные макрофаги, активированные звездчатые клетки и в меньшей степени синусоидальные эндотелиальные клетки печени способны к синтезу TGF- β [6, 7]. Доказано, что высокий уровень TGF- β приводит к трансдифференцировке покоящихся звездчатых клеток печени в миофибробласты и массовой гибели гепатоцитов, что способствует развитию фиброза печени и последующего цирроза.

Заключение

Использование препарата Гептор® у животных 3-й группы способствовало снижению уровня провоспалительных цитокинов IL-18, IL-6, IFN γ в ткани печени и TGF- β . Вследствие их воздействия отмечалось уменьшение воспалительной реакции, деструктивных изменений и степени фиброза, развивалось постепенное восстановление структурной организации печени.

Список литературы / References

1. Адеметионин в терапевтической практике // Медицинский совет, 2018. № 21. С. 106-109. [Ademetionine in therapeutic practice. Gastroenterology. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2018, no. 21, pp. 106-109. (In Russ.)]
2. Альпидовская О.В. Уровень цитокинов IL-6, IL-10, IL-18, TNF α в условиях табачной интоксикации и после введения аминопthalгидразида // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 3. С. 613-616. [Alpidovskaya O.V. Plasma levels of IL-6, IL-10, IL-18, TNF α under the conditions of tobacco intoxication and after treatment with aminophthalhydrazide. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2024, Vol. 26, no. 3, pp. 613-616. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PLO-2907.
3. Глухов А.А., Лаптиёва А.Ю., Андреев А.А., Остроушко А.П. Влияние факторов роста на процесс регенерации печени // Сибирское медицинское обозрение, 2022. № 1. С. 15-22. [Glukhov A.A., Laptieva A.Yu., Andreev A.A., Ostroushko A.P. The effect of growth factor expression on liver regeneration. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye = Siberian Medical Review*, 2022, no. 1, pp. 15-22. (In Russ.)]
4. Кляритская И.Л., Стилиди Е.И. Роль различных цитокинов в фиброгенезе печени при хронических вирусных гепатитах В и С // Крымский терапевтический журнал, 2010. № 1. С. 41-45. [Klyaritskaya I.L., Stilidi E.I. The role of various cytokines in liver fibrogenesis during chronic viral hepatitis B and C. *Krymskiy terapevtichnyy zhurnal = Crimean Therapeutic Journal*, 2010, no. 1, pp. 41-45. (In Russ.)]
5. Малышев И.И., Воробьева О.В., Романова Л.П. Влияние пассивного курения на структуру гепатоцитов и состояние микроциркуляторного русла в печени крыс // Морфология, 2022. Т. 160, № 1. С. 57-63. [Malyshev I.I., Vorobeva O.V., Romanova L.P. The effect of passive smoking on the structure of hepatocytes and the state of the microcirculatory bed in the liver in rats. *Morfologiya = Morphology*, 2022, Vol. 160, no. 1, pp. 57-63. (In Russ.)]
6. Морозова Т.С., Гришина И.Ф., Ковтун О.П. Цитокиновый профиль при хронических диффузных заболеваниях печени (обзор литературы) // Уральский медицинский журнал, 2018. № 13. С. 119-134. [Morozova T.S., Grishina I.F., Kovtun O.P. Cytokine profile in chronic diffuse liver diseases (literature review). *Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal*, 2018, Vol. 13, pp. 119-134. (In Russ.)]
7. Пулатова С.Д., Мироджов Г.К., Азимова С.М. Цитокины при циррозе печени // Медицинский вестник Национальной академии наук Таджикистана, 2017. № 2. С. 94-97. [Pulatova S.D., Mirojov G.K., Azimova S.M. Cytokines at cirrhosis of the liver. *Meditsinskiy vestnik Natsionalnoy akademii nauk Tadjikistana = Medical Bulletin of the National Academy of Sciences of Tajikistan*, 2017, no. 2, pp. 94-97. (In Russ.)]

8. Finotto H., Siebler J., Hausding M., Schipp M., Wirtz S., Klein S., Protsvyhka M., Doganci A., Lehr H., Trautwein C., Khosravi-Fahr R., Strand D., Lohse A., Galle P.R., Blessing M., Neurath M.F. Severe hepatic injury in interleukin 18 (IL-18) transgenic mice: a key role for IL-18 in regulating hepatocyte apoptosis in vivo. *Gut*, 2004, Vol. 53, pp. 392-400.

9. Pachówka M., Zegarska J., Ciecierski R., Korczak-Kowalska G. The role of IL-6 during the late phase of liver regeneration. *Ann. Transplant.*, 2008, Vol. 13, pp. 15-19.

Автор:

Альпидовская О.В. — к.м.н., доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Author:

Alpidovskaya O.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Chuvash Republic, Russian Federation

Поступила 10.06.2024
Принята к печати 14.09.2024

Received 10.06.2024
Accepted 14.09.2024