

СИНУСОИДАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ И ЦИТОКИНОВЫЙ ОТВЕТ ПРИ ТЕТРАХЛОРМЕТАН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ И СПОСОБ ЕЕ КОРРЕКЦИИ

Шафигуллина З.А.^{1,2}, Данилова И.Г.^{1,2}, Медведева С.Ю.^{1,2}, Черешнев В.А.^{1,2}, Абидов М.Т.¹

¹ ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

² ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Высокая распространенность заболеваний печени (токсические, вирусные гепатиты, печеночная недостаточность, цирроз) делает актуальным поиск новых методов лечения заболеваний гепатобилиарной системы. На сегодняшний день окончательно не выяснена роль иммунных механизмов в патогенезе развития диффузного токсического повреждения печени. Модель токсического гепатита, индуцированная тетрахлорметаном (CCl₄), широко известна, но, несмотря на это, именно экспериментальные модели позволяют дать комплексную оценку и разработать методы адекватной коррекции нарушений печени, что не всегда возможно в клинической практике.

Для создания модели диффузного токсического повреждения печени использовали масляный раствор CCl₄, который вводили животным экспериментальных групп однократно внутривентриально в дозе 50 мг/100 г массы тела. Инъекции аминофталгидазида (АФГ) экспериментальным животным с целью коррекции токсического повреждения печени осуществлялись в течение всего эксперимента внутримышечно из расчета 2 мг/кг.

На модели токсического повреждения печени CCl₄ и его коррекции АФГ проведена оценка роли синусоидальных клеток (СК) и продукции цитокинов на локальном и системном уровне. В ответ на диффузное токсическое повреждение печени на локальном уровне усиливается продукция провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α и IL-18, тогда как в плазме крови зафиксировано увеличение концентрации только TNF α . На фоне введения АФГ снижается концентрация провоспалительных цитокинов TNF α и IL-18 на системном уровне, а локально снижается уровень IL-6 и IFN γ .

Изменения функционального состояния иммунокомпетентных клеток, к числу которых относятся СК, оказывают существенное влияние на развитие патологических процессов в печени. Результаты проведенного нами исследования подтверждают тот факт, что в ранние сроки токсического воздействия в ткани печени возрастает количество СК, в том числе за счет притока моноцитов крови или за счет зрелых макрофагов перитонеальной полости, поступающих через мезотелий непосредственно к месту повреждения. СК осуществляют фагоцитоз поврежденных гепатоцитов и способствуют разрешению воспалительного процесса.

Модуляция активности макрофагов АФГ способствует увеличению числа СК в ранние сроки и стабилизирует их количество после 2-недельного применения. Изменение количества СК печени

Адрес для переписки:

Шафигуллина Злата Александровна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (952) 138-01-57.
E-mail: zlata_pyankova@mail.ru

Address for correspondence:

Shafigullina Zlata A.
Institute of Immunology and Physiology
620049, Russian Federation, Ekaterinburg,
Pervomayskaya str., 106.
Phone: 7 (952) 138-01-57.
E-mail: zlata_pyankova@mail.ru

Образец цитирования:

З.А. Шафигуллина, И.Г. Данилова, С.Ю. Медведева, В.А. Черешнев, М.Т. Абидов «Синусоидальные клетки и цитокиновый ответ при тетрахлорметан-индуцированной гепатотоксичности и способ ее коррекции» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 5. С. 929-936. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-929-936
© Шафигуллина З.А. и соавт., 2019

For citation:

Z.A. Shafigullina, I.G. Danilova, S.Yu. Medvedeva, V.A. Chereshev, M.T. Abidov "Sinusoidal cells and cytokine response in the tetrachloromethane-induced hepatotoxicity and an approach to its correction", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 5, pp. 929-936. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-929-936
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-5-929-936

при токсическом повреждении отражается на продукции цитокинов. Вероятно, направленное воздействие на СК посредством АФГ способно изменить продукцию регуляторных факторов и компенсировать недостаточную скорость восстановительных процессов после токсического повреждения.

Ключевые слова: синусоидальные клетки, цитокины, тетрахлорметан, диффузное токсическое повреждение печени

SINUSOIDAL CELLS AND CYTOKINE RESPONSE IN THE TETRACHLOROMETHANE-INDUCED HEPATOTOXICITY AND AN APPROACH TO ITS CORRECTION

Shafigullina Z.A.^{a, b}, Danilova I.G.^{a, b}, Medvedeva S.Yu.^{a, b},
Chereshnev V.A.^{a, b}, Abidov M.T.^a

^a B. Eltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

^b Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Abstract. High occurrence of liver diseases (toxic, viral hepatitis, liver failure, cirrhosis) requires urgent search of new methods for management of the hepatobiliary diseases. At the present time, the role of immune mechanisms in pathogenesis of diffuse toxic liver damage is not finally clarified. The model of toxic hepatitis induced by carbon tetrachloride (CCl₄) is widely known, but this approach allows us to perform complex evaluation and develop the methods for adequate correction of liver disorders in experimental model, which is not always feasible in clinical setting.

To design a model of diffuse toxic liver damage, the CCl₄ oil solution was used, having been administered intraperitoneally to experimental animals, at a single dose of 50 mg per 100 g body mass. Aiming for correction of toxic liver damage, the injections of aminophthalhydrazide (APH) to experimental animals were carried out intramuscularly at the dose of 2 mg/kg over the terms of experiment. An evaluation of the role of sinusoidal cells (SC) and cytokine production at the local and systemic level were carried out in the model of toxic liver damage caused by CCl₄ and its correction by APH treatment. In the course of developing diffuse toxic liver damage induced by CCl₄, the production of proinflammatory cytokines TNF α , IL-1 α and IL-18 was enhanced at the local level, whereas an increase in TNF α concentration was observed in blood plasma. Following aminophthalhydrazide (APH) administration, the concentrations of proinflammatory cytokines (TNF α and IL-18) decreased at system level, along with locally decreased levels of IL-6 and IFN γ .

Changes in the functional state of immunocompetent cells, which include sinusoidal cells (SC), have a significant impact on the development of pathological processes in the liver. The results of our study presume that, over the early periods of toxic impact upon liver tissue, the number of SCs increases both due to influx of blood monocytes and mature macrophages from the peritoneal cavity that enter the injury site directly *via* mesothelial layer. The SCs provide phagocytosis of damaged hepatocytes and contribute to resolution of the inflammatory process.

Modulation of the macrophage activities by APH contributes to increased amounts of SCs at the early stages, and stabilizes their quantities after 2 weeks of APH injections. Change in the numbers of liver SCs during toxic damage affects the production of cytokines. A direct effect of APH upon the SCs may change the production of regulatory factors and compensate the insufficient rate of recovery processes after the toxic damage.

Keywords: sinusoidal cells, cytokines, tetrachloromethane, diffuse toxic liver damage

Исследование проведено в рамках бюджетной программы «Изучение механизмов регенераторных процессов в органах и тканях с использованием экспериментальных моделей экстремальных факторов и токсического воздействия на организм», № гос. регистрации – АААА-А18-118020590107-0, «Иммунная система в регуляции физиологических функций в норме

и при патологических процессах» № гос. регистрации – АААА-А18-118020590108-7.

Введение

В общей структуре заболеваний значительную долю занимают патологии гепатобилиарной системы. Одной из наиболее распространен-

ных причин данных заболеваний является воздействие гепатотоксических агентов. Несмотря на большое количество научных публикаций, до настоящего времени окончательно не выяснена роль иммунных механизмов в патогенезе развития диффузного токсического повреждения печени.

Метаболические нарушения при действии тетрахлорметана (CCl_4) способны изменять продукцию про- и противовоспалительных цитокинов клетками иммунной системы. СК печени, большую часть которых составляют макрофаги, принадлежит важная роль как в поддержке воспалительной реакции, так и в регуляции регенерации [4, 11].

Синусоидальные эндотелиальные клетки являются многочисленной непаренхиматозной клеточной популяцией печени и представлены 4 основными разновидностями, имеющими мезенхимальное происхождение: лейкоциты, эндотелиоциты, клетки Ито, клетки Купфера или фиксированные макрофаги [12]. СК выполняют роль «барьера» в печеночных синусоидах, обеспечивают фильтрацию, эндоцитоз, презентацию антигенов и привлечение лейкоцитов к месту повреждения [17].

Основными факторами, регулирующими воспалительный процесс и регенерацию, являются цитокины, локально выделяющиеся клетками моноцитарно-макрофагального ряда в очаг повреждения. Такие цитокины, как $TNF\alpha$, $IL-1$, $IL-6$, ростовые факторы HGF, вырабатываемые синусоидальными клетками печени, запускают сигнальные пути трансдукции репликации ДНК (STAT3, MAPK) [8]. Ростовые факторы PDGF, IGF-1, HGF, TGF- β , синтезируемые синусоидальными клетками, снижают степень апоптоза гепатоцитов, уменьшают продукцию оксида азота и активных форм кислорода. Вышеперечисленные факторы способны усиливать межклеточные взаимодействия клеток печени, восстанавливать функциональную активность сохранившихся и вновь образованных гепатоцитов [9, 15]. Поиск новых подходов иммунокорректирующей терапии, способной приводить к модификации регенераторного потенциала органа на сегодняшний день остается актуальной задачей.

Цель исследования — оценить уровень значимых цитокинов и роль синусоидальных клеток при токсическом повреждении печени и на фоне его коррекции АФГ.

Материалы и методы

Эксперимент по моделированию диффузного токсического повреждения печени был выполнен на 65 крысах-самцах линии Wistar массой 180 ± 10 г, одобрен локальным этическим коми-

тетом Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (г. Екатеринбург, Россия) и соответствует принципам, сформулированным в Директиве 2010/63/ЕС Европейского парламента и Европейского Совета от 22 сентября 2010 года о защите животных, используемых в научных целях (Официальный журнал Европейского союза, 2010 г.). Животные, используемые в исследовании, содержались в одинаковых условиях по 5 крыс в клетке на обычном рационе вивария со свободным доступом к пище и воде и температурным режимом 20 ± 2 °С.

Были сформированы следующие экспериментальные группы животных: интактная, CCl_4 3 сутки, CCl_4 7 сутки, CCl_4 , 14 сутки, CCl_4 + АФГ 3 сутки, CCl_4 + АФГ 7 сутки, CCl_4 + АФГ 14 сутки. Для создания модели диффузного токсического повреждения печени использовали CCl_4 , который вводили животным экспериментальных групп однократно внутривентриально в дозе 50 мг/100 г массы тела. Инъекции аминофталгидразида экспериментальным животным осуществлялись в течение всего эксперимента внутримышечно из расчета 2 мг/кг. АФГ обладает противовоспалительными, иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами. Его основные фармакологические эффекты обусловлены способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность макрофагов и восстанавливать их антигенпрезентирующую и секреторную функции [13]. К группам с CCl_4 -воздействием и с применением АФГ были сформированы контрольные группы животных, которым вводили аналогичные дозы масляного раствора и 0,85% раствора хлорида натрия соответственно. Интактную группу составляли здоровые животные. Животных опытных групп выводили из эксперимента на 3, 7 и 14 сутки передозировкой диэтилового эфира.

Образцы ткани печени погружали в 10% нейтральный формалин на 24 часа при комнатной температуре. Подготовку образцов для гистологического исследования осуществляли с использованием автоматического процессора Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин [10]. Со срезов толщиной 3-4 мкм удаляли парафин, для этого стекла помещались последовательно в ксилол, в 100% спирт и в растворы с постепенным снижением концентрации спирта до полностью водного раствора. Срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе Leica Application Suite (V4). Подсчет количества СК осуществляли в единице площади в 20-ти полях зрения при увеличении микроскопа $\times 400$. Данный показатель позволяет

охарактеризовать вклад СК в регенерацию печени при токсическом повреждении.

Для анализа содержания цитокинов в плазме крови экспериментальных животных производили забор периферической крови, центрифугировали при 3000 об/мин на холоде в течение 15 мин. Подготовка гомогената печени крыс включала гомогенизацию образцов, ресуспендирование с физиологическим раствором (0,85% р-р хлорида натрия) и центрифугирование при 5000 об/мин на холоде в течение 30 мин [1, 18].

Содержание цитокинов в плазме крови и гомогенатах печени крыс определяли методом иммуноферментного анализа с использованием прибора Lazurite Automated ELISA System. Для оценки уровня цитокинов в плазме крови использовали наборы для ИФА (иммуноферментный анализ) фирмы Thermo Scientific: Rat TNF-alpha Platinum ELISA BMS622 TWO/BMS622TEN, Rat IL-6 ELISA Kit BMS625/BMS625 TWO/BMS625 TEN, Rat IL-10 Platinum ELISA BMS629/BMS629 TEN, Rat IL-18 ELISA Kit KRC2341, а для гомогенатов печени, кроме вышеперечисленных, – Rat TGF-β1 Platinum ELISA BMS623/3/BMS623/3TEN, Rat IFN gamma Platinum ELISA BMS621 TWO/BMS621TEN, Rat IL-1 alpha Platinum ELISA BMS627/ BMS627TEN.

Статистическая обработка результатов эксперимента выполнена с применением Statistica 10.0. Для сравнения двух независимых групп использован непараметрический критерий Манна–Уитни. При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости 5% ($P < 0,05$).

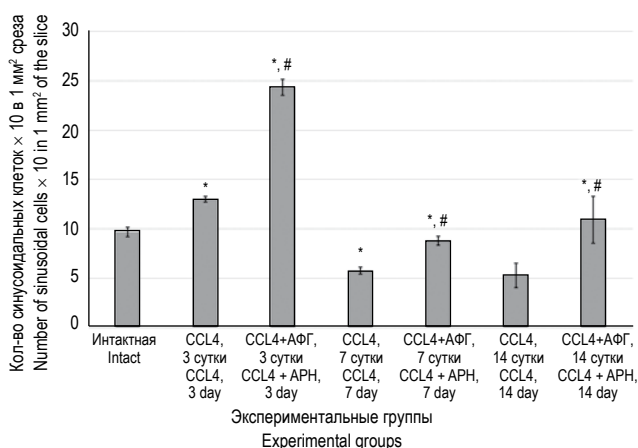


Рисунок 1. Синусоидальные клетки печени в динамике токсического повреждения и на фоне его коррекции

Примечание. * – различия с интактными животными достоверны при $p < 0,05$; # – различия с группой CCl₄ 3, 7 и 14 сутки достоверны при $p < 0,05$.

Figure 1. Sinusoidal liver cells in the dynamics of toxic damage and during of its correction

Note. *, differences with intact animals are significant at $p < 0.05$; #, differences with CCl₄ group 3, 7 and 14 days are significant at $p < 0.05$.

Результаты

В связи с тем, что в ходе морфометрического анализа и ИФА различий между интактной и контрольными группами животных не было установлено, в дальнейшем представлены результаты только интактной группы.

В соответствии с морфометрическими данными на 3 сутки после введения токсиканта отмечается достоверное увеличение количества СК с $9,69 \pm 0,48$ кл × 10/мм² (интактная группа) до $13,0 \pm 0,28$ кл × 10/мм² (рис. 1).

На 7 и 14 сутки после воздействия CCl₄ наблюдается снижение числа СК не только относительно интактной группы, но и относительно группы CCl₄, 3 сутки до значения $5,8 \pm 0,37$ кл × 10/мм² и $5,3 \pm 1,25$ кл × 10/мм² соответственно (рис. 1).

Модуляция активности макрофагов АФГ приводит к увеличению количества СК в печени на 3 сутки токсического воздействия, а на 7 и 14 сутки после терапии данный показатель снижается относительно 3 суток, но остается выше, чем в группах без лечения. Следовательно, есть основания полагать, что направленное воздействие на синусоидальные клетки посредством АФГ способно изменить продукцию регуляторных факторов и компенсировать недостаточную скорость восстановительных процессов после токсического повреждения.

Изменение количества синусоидальных клеток печени при токсическом повреждении отражается на продукции цитокинов. Так, при экспериментальном диффузном токсическом повреждении печени на 3 сутки отмечается резкое увеличение плазменной концентрации TNFα до $922,16 \pm 192,20$ пг/мл по сравнению с показателем интактной группы ($16,14 \pm 3,09$ пг/мл) (табл. 1).

Повышение уровня TNFα в плазме крови коррелирует с увеличением числа синусоидальных клеток печени на 3 сутки после введения CCl₄. На 7 сутки токсического воздействия уровень TNFα снижается как относительно показателей интактной группы, так и относительно группы CCl₄ 3 сутки. На 14 суткам после введения токсиканта количество TNFα увеличивается по сравнению с интактной группой и существенно снижается по сравнению с показателями группы CCl₄ 3 сутки (табл. 1). Применение АФГ при токсическом повреждении печени приводит к плавному снижению концентрации TNFα и достигает минимального значения на 14 сутки (табл. 1).

При оценке концентрации IL-6 в плазме крови после воздействия токсиканта во все сроки эксперимента достоверных различий с показателями интактной группы не установлено (табл. 1). Введение АФГ на 3 сутки не приводит к изменению уровня IL-6 в плазме крови, однако в более

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 1. THE CONCENTRATION OF CYTOKINES IN THE BLOOD PLASMA OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Группа / Показатель Group / Parameter	TNF α , пг/мл pg/ml	IL-6, пг/мл pg/ml	IL-18, пг/мл pg/ml	IL-10, пг/мл pg/ml
Интактная Intact (a)	16,14 \pm 3,09	39,06 \pm 7,69	5,97 \pm 1,72	3542,03 \pm 1477,07
CCl ₄ , 3 сутки CCl ₄ , 3 day (b)	922,16 \pm 192,20 ^a	53,35 \pm 18,28	6,72 \pm 0,31	4757,90 \pm 1215,78
CCl ₄ , 7 сутки CCl ₄ , 7 day (c)	3,60 \pm 1,13 ^{a, b, e}	48,92 \pm 8,98	8,25 \pm 0,71 ^e	77,51 \pm 11,86 ^{a, b, e}
CCl ₄ , 14 сутки CCl ₄ , 14 day (d)	33,52 \pm 5,93 ^{a, b, c, e}	43,26 \pm 3,63 ^f	6,48 \pm 0,51 ^e	134,15 \pm 42,49 ^{a, b, e, f}
CCl ₄ + АФГ, 3 сутки CCl ₄ + APH, 3 day (e)	240,50 \pm 25,89 ^{a, b}	36,34 \pm 2,04	4,25 \pm 0,33 ^b	2194,02 \pm 356,87
CCl ₄ + АФГ, 7 сутки CCl ₄ + APH, 7 day (f)	32,03 \pm 11,40 ^{b, e}	126,46 \pm 6,88 ^{a, b, c, e}	8,95 \pm 2,06	812,43 \pm 109,98 ^{a, b, c, e}
CCl ₄ + АФГ, 14 сутки CCl ₄ + APH, 14 day	1,44 \pm 0,33 ^{a, b, d, e, f}	272,82 \pm 5,71 ^{a, b, c, d, e, f}	3,68 \pm 0,71 ^{b, c, d}	123,30 \pm 39,20 ^{a, b, e, f}

Примечание. a, b, c, d, e, f – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с группой (a), (b), (c), (d), (e), (f) соответственно.

Note. a, b, c, d, e, f are statistically significant differences ($p < 0.05$) with group (a), (b), (c), (d), (e), (f) respectively.

поздние сроки исследования отмечается увеличение плазменной концентрации IL-6 относительно показателей групп CCl₄ 7 и 14 сутки (табл. 1).

Воздействие CCl₄ не оказывает влияния на концентрацию IL-18 в плазме крови. На фоне введения АФГ на 3 и 14 сутки концентрация IL-18 заметно снижается до значений 4,25 \pm 0,33 пг/мл и 3,68 \pm 0,71 пг/мл соответственно (табл. 1).

Токсическое действие CCl₄ вызывает резкое снижение концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 в плазме крови на 7 и 14 сутки по сравнению с интактной группой и группой CCl₄ 3 сутки. На фоне применения АФГ на 7 сутки отмечается характерное для токсического повреждения снижение уровня IL-10 (табл. 1).

В ходе исследования уровня цитокинов в гомогенатах печени у крыс после внутрибрюшинного введения CCl₄, в зависимости от продолжительности действия токсиканта, обнаружено увеличение концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 α , IL-6 и TNF α , противовоспалительного медиатора IL-10 и снижение содержания TGF- β (табл. 2).

Модуляция активности макрофагов приводит к увеличению концентрации IL-1 α , TGF- β и способствует снижению продукции провоспалительных цитокинов IL-6, IFN γ на локальном уровне. При этом применение АФГ не оказывает существенного влияния на локальную концентрацию IL-18, TNF α и IL-10.

Обсуждение

В работах, опубликованных нами ранее, показано, что CCl₄ вызывает повреждение не только органа-мишени (печени), но и других органов, что приводит к развитию системного воспалительного ответа, который выражается в активации макрофагального звена иммунной системы и выработке цитокинов [3, 4].

Изменения функционального состояния иммунокомпетентных клеток, к числу которых относятся синусоидальные клетки, оказывают существенное влияние на развитие патологических процессов в печени [16, 17]. Результаты проведенного нами исследования подтверждают тот факт, что в ранние сроки токсического воздей-

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В ГОМОГЕНАТАХ ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 2. THE LEVEL OF CYTOKINES IN THE LIVER HOMOGENATES OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Группа / Показатель Group / Parameter	IL-1 α , пг/мл pg/ml	IL-6, пг/мл pg/ml	IL-18, пг/мл pg/ml	TNF α , пг/мл pg/ml	IFN γ , пг/мл pg/ml	IL-10, пг/мл pg/ml	TGF- β , пг/мл pg/ml
Интактная Intact (a)	941,50 \pm 98,16	30,52 \pm 3,58	543,27 \pm 18,22	694,19 \pm 188,79	931,25 \pm 86,34	182,86 \pm 44,61	817,18 \pm 220,79
CCl ₄ , 3 сутки CCl ₄ , 3 day (b)	1146,97 \pm 213,15	44,90 \pm 3,23 ^a	593,74 \pm 28,51	1090,42 \pm 72,36	1199,88 \pm 81,09	419,43 \pm 131,03	223,62 \pm 20,16 ^a
CCl ₄ , 7 сутки CCl ₄ , 7 day (c)	1272,63 \pm 39,25 ^a	36,50 \pm 13,93	779,36 \pm 58,85 ^{a, e}	1154,13 \pm 138,92	857,89 \pm 48,17 ^b	509,71 \pm 83,05 ^{a, e}	239,11 \pm 26,62 ^a
CCl ₄ , 14 сутки CCl ₄ , 14 day (d)	1409,63 \pm 110,91 ^{a, e}	12,22 \pm 1,22 ^{a, b, e, f}	601,48 \pm 19,58	1283,17 \pm 97,96 ^a	674,66 \pm 62,75 ^b	460,57 \pm 95,70 ^{a, e}	623,39 \pm 137,51 ^{b, c}
CCl ₄ + АФГ, 3 сутки CCl ₄ + APH, 3 day (e)	944,30 \pm 100,91	29,51 \pm 1,90 ^b	522,08 \pm 24,10	1193,46 \pm 158,77	831,88 \pm 80,12 ^b	90,84 \pm 0,01 ^a	558,14 \pm 203,50 ^b
CCl ₄ + АФГ, 7 сутки CCl ₄ + APH, 7 day (f)	1622,83 \pm 120,66 ^{a, c, e}	77,80 \pm 2,93 ^{a, b, e}	735,53 \pm 41,54 ^{a, e}	1484,70 \pm 260,47	675,05 \pm 17,55 ^{a, b, c}	274,57 \pm 34,14 ^e	401,92 \pm 35,02 ^{b, c}
CCl ₄ + АФГ, 14 сутки CCl ₄ + APH, 14 day	1401,63 \pm 110,02 ^{a, e}	8,03 \pm 0,77 ^{a, b, c, e, f}	575,86 \pm 44,22 ^{c, f}	1157,38 \pm 70,73	666,12 \pm 34,53 ^{a, b, c}	428,29 \pm 18,56 ^{a, e}	1167,19 \pm 437,77 ^{b, c}

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ствия в ткани печени возрастает количество синусоидальных клеток, в том числе за счет притока моноцитов крови или за счет зрелых макрофагов перитонеальной полости, поступающих через мезотелий непосредственно к месту повреждения [14].

Синусоидальные клетки печени способны продуцировать такие провоспалительные цитокины, как IL-1, IL-6 и TNF α . Доказано, что данные медиаторы отвечают за стимуляцию системного ответа в острой фазе воспаления [5, 7]. В нормальных физиологических условиях в печени цитокины продуцируются в минимальных концентрациях. Однако различные патофизиологические стимулы, такие как накопление в клетках печени липидов, свободных радикалов, а также поступление в печень токсинов, способствуют увеличению содержания провоспалительных молекул [5, 6].

В данном исследовании показано, что в ответ на диффузное токсическое повреждение печени на системном уровне наблюдается усиленная выработка провоспалительного цитокина TNF α и подавление продукции IL-10, при этом концентрация провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-18 остается неизменной.

При действии токсиканта на локальном уровне отмечается увеличение концентрации IL-1 α , IL-18, TNF α , IL-10 и снижение IL-6, IFN γ , TGF- β . Повышенная продукция IL-1 α и IL-18 в гомогенатах печени, по-видимому, запускает локальное воспаление, повышая уровни таких цитокинов, как TNF α , IL-6. Повышение концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 подтверждает ключевую роль данного медиатора в регуляции иммунного ответа и способность подавлять секрецию провоспалительных цитокинов TNF α и IL-6 [2].

Воздействие на синусоидальные клетки АФГ способствует увеличению уровня IL-10, IL-6 и снижению IL-18, TNF α в плазме крови, а на локальном уровне приводит к росту концентрации IL-1 α , TGF- β и снижению уровня IL-6, IFN γ .

Таким образом, уточнение механизмов биологических эффектов аминофталгидрида на синусоидальные клетки и продукцию цитокинов,

а также поиск эффективных стимуляторов регенерации печени среди других модуляторов функции макрофагов является перспективным направлением исследования.

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН.

Список литературы / References

1. Притулина Ю.Г., Криворучко И.В., Шенцова В.В., Филь Г.В., Астапченко Д.С., Сахарова Л.А. Анализ цитокинового статуса при ряде инфекционных заболеваний // Успехи современного естествознания, 2014. № 2. С. 16-20. [Pritulina Yu.G., Krivoruchko I.V., Shentsova V.V., Fil G.V., Astapchenko D.S., Sakharova L.A. Analysis of cytokine status in a number of infectious diseases. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Advances in Current Natural Sciences*, 2014, no. 2, pp. 16-20. (In Russ.)]
2. Шашкевич Д.С., Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л. Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения: учеб. пособие. Челябинск: Цицеро, 2016. 82 с. [Stashkevich D.S., Filippova Yu.Yu., Burmistrova A.L. Immediate questions of immunology: cytokine system, biological significance, genetic polymorphism, methods of determination: studies manual]. Chelyabinsk: Cicero, 2016. 82 p.
3. Шафигуллина З.А., Медведева С.Ю., Данилова И.Г. Иммунотоксическое действие тетрахлорметана // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12 (21), № 3. С. 493-499. [Shafigullina Z.A., Medvedeva S.Yu., Danilova I.G. Immunotoxic effect of carbon tetrachloride. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12 (21), no. 3, pp. 493-499. (In Russ.)]
4. Шафигуллина З.А., Медведева С.Ю., Данилова И.Г. Роль клеточного компонента стромы в компенсаторных процессах при диффузном повреждении печени // Токсикологический вестник, 2018. № 3 (150). С. 32-37. [Shafigullina Z.A., Medvedeva S.Yu., Danilova I.G. Role of the stromal cellular component in compensatory processes during diffusal toxic damage. *Toksikologicheskiy vestnik = Toxicological Review*, 2018, no. 3 (150), pp. 32-37. (In Russ.)]
5. Braunersreuther V., Viviani G.L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.*, 2012, Vol. 18, pp. 727-735.
6. Copaci L., Micu L., Voiculescu M. The role of cytokines in non-alcoholic steatohepatitis. A review. *J. Gastrointest. Liver Dis.*, 2006, Vol. 15, no. 4, pp. 363-373.
7. Fernandez-Real J.M., Broch M., Vendrell J., Richart C., Ricart W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, Vol. 85, no. 3, pp. 1334-1339.
8. Gao B. Hepatoprotective and anti-inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2012, Suppl. 2, pp. 89-93.
9. Knolle P.A. Local control of the immune response in the liver. *Immunol. Rev.*, 2000, Vol. 174, pp. 21-34.
10. Kumar G.L., Rudbeck L. Education guide. Immunohistochemical (IHC) staining methods. 2009. Dako North America, Carpinteria, California. 160 p.
11. Marrone G., Shah V.H., Gracia-Sancho J. Sinusoidal communication in liver fibrosis and regeneration. *J. Hepatol.*, 2016, Vol. 65, no. 3, pp. 608-617.
12. Okada T., Kimura A., Kanki K., Nakatani S., Nagahara Y., Hiraga M., Watanabe Y. Liver resident macrophages (kupffer cells) share several functional antigens in common with endothelial cells. *Scand. J. Immunol.*, 2016, Vol. 83, pp. 139-150.
13. Patent US, USOO9101629B2, 11.08.2015. Method for obtaining 5-amino 2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione alkali metal salts and their use in medicine. Patent United States of America, USOO9101629B2 US 9, 101, 629 B2 / Abidov A.M., Danilova I.G.
14. Rehmann B. Mature peritoneal macrophages take an avascular route into the injured liver and promote tissue repair. *Hepatology*, 2017, Vol. 65, no. 1, pp. 376-379.
15. Rountree C.B. A CD133-expressing murine liver oval cell population with bilineage potential. *Stem. Cells*, 2007, Vol. 25, no. 10, pp. 2419-2429.
16. Sanchez Perez M.J., Gonzalez-Reimers E., Santolaria-Fernandez F. Lipid peroxidation and serum cytokines in acute alcoholic hepatitis. *Alcohol Alcohol.*, 2006, Vol. 41, no. 6, pp. 593-597.
17. Shetty S., Lalor P.F., Adams D.H. Liver sinusoidal endothelial cells, gatekeepers of hepatic immunity. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2018, Vol. 15, pp. 555-567.
18. Zahr M.N., Luong R., Sullivan E.V., Pfefferbaum A. Measurement of serum, liver, and brain cytokine induction, thiamine levels, and hepatopathology in rats exposed to a 4-day alcohol binge protocol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2010, Vol. 34, no. 11, pp. 1858-1870.

Авторы:

Шафигуллина З.А. — аспирант, Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; младший научный сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Данилова И.Г. — д.б.н., доцент, заведующая лабораторией морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; заведующая кафедрой медицинской биохимии и биофизики, Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Медведева С.Ю. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; доцент кафедры медицинской биохимии и биофизики, Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Черешнев В.А. — д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; заведующий кафедрой иммунохимии, Химико-технологический институт ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Абидов М.Т. — д.м.н., профессор, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Shafigullina Z.A., Postgraduate Student, Institute of Natural Sciences and Mathematics, B. Eltsin Ural Federal University; Junior Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Danilova I.G., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Sciences and Mathematics, B. Eltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

Medvedeva S.Yu., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Sciences and Mathematics, B. Eltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

Chereshnev V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Main Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Immunochemistry, Institute of Chemical Technologies, B. Eltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

Abidov M.T., PhD, MD (Medicine), Professor, B. Eltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

Поступила 13.02.2019
Принята к печати 05.04.2019

Received 13.02.2019
Accepted 05.04.2019