

О. Н. Павлова¹, О. Н. Гуленко¹, Д. С. Громова¹, Е. Ю. Кузина²

Исследование иммунных механизмов в тканях печени и плазме крови крыс на фоне нагрузки растительными экстрактами и индуцированном оксидативном стрессе

Аннотация.

Цель: изучение репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени крыс на фоне нагрузки водными экстрактами ежевики и пижмы обыкновенной и индуцированном оксидативном стрессе.

Материалы и методы. В эксперименте использовано 120 крыс. Согласно групповой принадлежности животные получали водные экстракты пижмы обыкновенной и ежевики в дозе 50 мг/100г массы животного, объемом 1,5 мл в ежедневно течение 30 дней, а животные контрольной группы – в том же режиме дистиллированную воду. Начиная с 30 суток опыта крысам, параллельно с введением растительных экстрактов, делали инъекции масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток в дозе 2 г/кг веса животного. На 37 сутки опыта у животных брали кровь, а затем убивали в соответствии с этическими нормами. Из тканей печени изготавливали гистологические препараты и производили подсчет количества синусоидальных клеток. Содержание цитокинов в гомогенатах печени и плазме крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа с использованием прибора Lazurite Automated ELISA System.

Результаты. При возникновении оксидативного стресса в плазме крови наблюдается усиленная выработка провоспалительного цитокина TNF α и подавление продукции IL-10, при этом концентрация провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-18 изменяется не существенно. При этом в ответ на диффузное токсическое повреждение печени и возникновение оксидативного стресса в тканях печени отмечается увеличение концентрации цитокинов IL-1 α , IL-18, TNF α , IL-10 и снижение концентрации IL-6, IFN γ , TGF- β . Повышенная продукция IL-1 α и IL-18 в тканях 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.

Заключение. Водные экстракты пижмы и ежевики в разной степени модулируют функциональное состояние синусоидальных клеток в ранние сроки токсического воздействия тетрахлорметаном, что способствует скорейшему разрешению воспалительного процесса. Воздействие водных экстрактов пижмы и ежевики на синусоидальные клетки изменяет продукцию регуляторных факторов, что компенсирует скорость восстановительных процессов после токсического воздействия.

Ключевые слова: печень, синусоидальные клетки, цитокины, оксидативный стресс, тетрахлорметан.

Авторы:

Павлова О. Н. — доктор биологических наук; e-mail: casiopeya13@mail.ru;

Гуленко О. Н. — кандидат биологических наук; e-mail: gulenko_ol@mail.ru;

Громова Д. С. — e-mail: d.s.gromova@samsmu.ru;

Кузина Е. Ю. — ассистент кафедры медико-биологических дисциплин.

¹ ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 443099; Россия, Самарская обл., Самара, ул., Чапаевская, 89.

² ЧУ ОО ВО «Медицинский университет «Реавиз»; 443001, Россия, Самарская область, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 227.

Введение. Патологии гепатобилиарной системы занимают значительную долю в общей структуре заболеваний. Одной из самых распространенных причин таких заболеваний является воздействие гепатотоксических веществ, провоцирующих оксидативный стресс. Несмотря на большое количество научных публикаций, роль иммунных механизмов в патогенезе развития оксидативного стресса при диффузном токсиче-

ском повреждения печени до настоящего времени не выяснена окончательно [1, 2].

Морфологические изменения, которые развиваются в печени при ее токсическом повреждении, основаны на цитолизе гепатоцитов. Этот процесс инициирует прогрессирующий некробиоз клеток печени. Чрезмерная пероксидация мембранных структур, вызванная усиленной выработкой активных форм кислорода, является универсальным

механизмом повреждения и даже гибели клеток любых органов, включая печень [1, 3].

Метаболические расстройства, возникающие при воздействии тетрахлорметана, могут изменять производство противовоспалительных цитокинов клетками иммунной системы. Особую роль в этом процессе играют синусоидальные клетки печени, большую часть из которых составляют макрофаги. Эти клетки выполняют важные функции в поддержании воспалительной реакции и регуляции процесса регенерации [4].

Среди патогенетических средств лечения заболеваний печени традиционно выделяют группу гепатопротекторов, преимущественно растительного происхождения, которые обладают антиоксидантными свойствами.

Таким образом, **цель** нашего исследования состояла в изучении репаративных процессов и иммунных механизмов в тканях печени крыс на фоне нагрузки водными экстрактами ежевики и пижмы обыкновенной и индуцированном оксидативном стрессе.

Материалы и методы. В эксперименте использовано 120 шестимесячных крыс мужского пола, массой 240-260 г, которые были разделены на 4 группы поровну. Первая группа — интактные крысы, к ним не применяли никаких воздействий, 2 группа — животные, получавшие дистиллированную воду и инъекции CCl₄; 3 группа — крысы, получавшие водный экстракт ежевики и инъекции CCl₄ и 4 группа — крысы, получавшие водный экстракт пижмы обыкновенной и инъекции CCl₄. Согласно групповой при-

надлежности животные получали водные экстракты пижмы обыкновенной и ежевики производства ООО «КоролёвФарм» в дозе 50 мг/100г массы животного (дозу рассчитывали по суточным нормам потребления основных биологически активных соединений, содержащихся в этих экстрактах на массу животного), объемом 1,5 мл в ежедневно течение 30 дней, а животные контрольной группы — в том же режиме дистиллированную воду. Начиная с 30 суток опыта крысам, параллельно с введением растительных экстрактов, делали инъекции масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток в дозе 2 г/кг веса животного. На 37 сутки опыта у животных брали кровь, а затем убивали в соответствии с этическими нормами под эфирным наркозом методом декапитации, затем проводили извлечение печени. Образцы ткани печени погружали в 10% нейтральный формалин на сутки при комнатной температуре. Для изготовления гистологических препаратов использовали автоматический процессор Leica EG 1160. 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 синусоидальных клеток осуществляли в единице площади в 20-ти полях зрения при увеличении микроскопа Ч400.

Для анализа содержания цитокинов в плазме крови экспериментальных животных производили забор периферической крови, центрифугировали при 3000 об/мин на холоде в течение 15 мин. Для анализа содержания цитокинов в тканях печени производили подготовку гомогенатов,

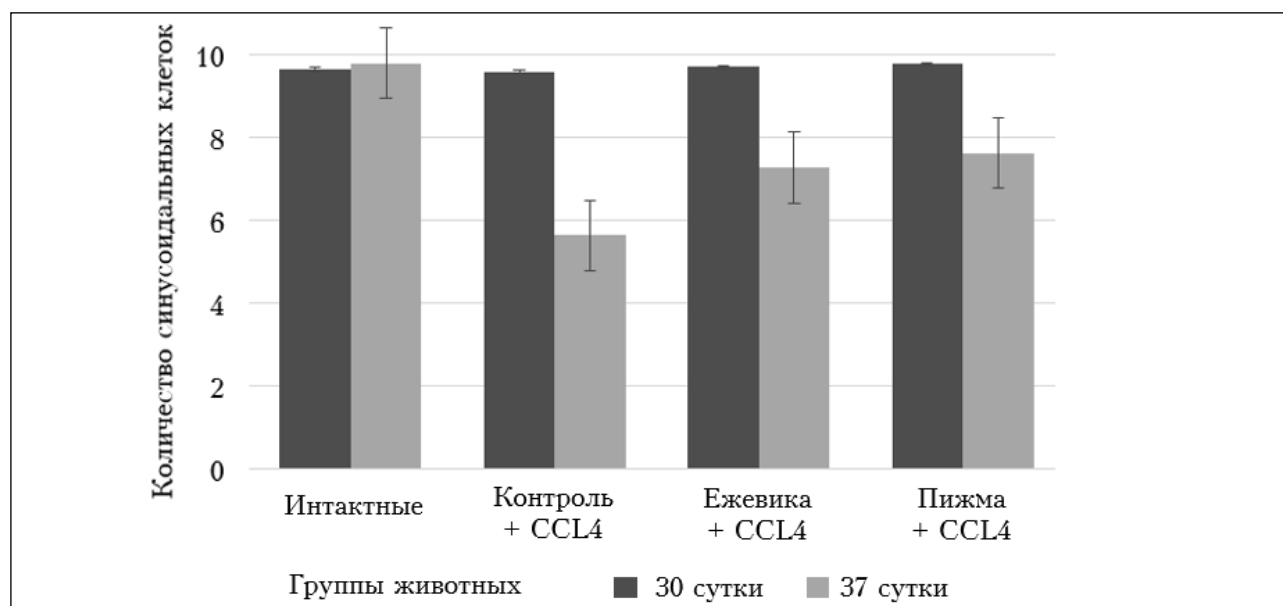


Рис. 1. Динамика синусоидальных клеток в норме и на фоне нагрузки растительными экстрактами при моделировании оксидативного стресса

которая включала гомогенизацию образцов печени ресуспендирование с физиологическим раствором (0,85% р-р хлорида натрия) и центрифугирование при 5000 об/мин на холоде в течение 30 мин [5]. Содержание цитокинов в гомогенатах печени и плазме крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа с использованием прибора Lazurite Automated ELISA System. Для оценки уровня цитокинов использовали наборы для ИФА фирмы Thermo Scientific [6, 7].

Цифровой материал всех экспериментов подвергали статистической обработке с помощью непараметрических методов анализа.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования динамики синусоидальных клеток в норме и на фоне нагрузки растительными экстрактами при индуцированном CCl₄ оксидативном стрессе представлены на рисунке 1.

По данным, представленным на рисунке, видно, что у интактных животных количество синусоидальных клеток в тканях печени было практически неизменным, в то время как на фоне введения в организм CCl₄ в виде масляного раствора установлено снижение их количества на 41,3 % ($U = 157,8000$, $Z = -2,974471$ при $p = 0,000011$) от исходного значения и на 42,5 % ($U = 187,2000$, $Z = -3,684471$ при $p = 0,000017$) относительно показателей интактных животных на 37 сутки. В экспериментальных группах крыс установлена аналогичная тенденция: в тканях печени крыс, получавших в качестве дополнительной нагрузки экстракт ежевики, количество синусоидальных клеток в тканях печени снизилось на 25,2 % ($U = 101,80000$, $Z = -3,596625$ при $p = 0,0$) по сравнению с исходным значением и на 25,9 % ($U = 181,60000$, $Z = -4,152254$ при $p = 0,000221$) по сравнению с интактными животными; у крыс, получавших экстракт пижмы — уменьшилось на 21,9 % ($U = 191,9000$, $Z = -$

2,522711 при $p = 0,0$) по сравнению с исходным значением и на 22,2 % ($U = 144,40000$, $Z = -2,392214$ при $p = 0,0$) по сравнению с интактными животными. При этом следует отметить, что количество синусоидальных клеток в тканях печени крыс, получавших растительные экстракты, было больше по сравнению с показателями контрольной группы с индуцированным оксидативным стрессом: у крыс, получавших экстракт ежевики — больше на 11,7 % ($U = 177,7000$, $Z = -3,822171$ при $p = 0,0$), у животных, получавших экстракт пижмы — больше на 35,4 % ($U = 201,5000$, $Z = -2,933141$ при $p = 0,0$).

Результаты исследования концентрации цитокинов в тканях печени экспериментальных животных в норме, на фоне нагрузки антиоксидантами при индуцированном оксидативном стрессе представлены в таблице 1.

В тканях печени крыс 2 группы по сравнению с первой установлено увеличение концентрации IL-1α на 57,0 % ($U = 122,300$, $Z = -3,475111$ при $p = 0,000293$) на 37 сутки опыта. В тканях печени крыс 3 группы также установлено увеличение концентрации IL-1α на 36,2 % ($U = 147,7000$, $Z = -3,154411$ при $p = 0,000374$) по сравнению с животными 1 группы, и при этом она была на 13,2 % меньше ($U = 154,10000$, $Z = -2,965512$ при $p = 0,000217$) по сравнению с животными 2 группы. В тканях печени крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации IL-1α на 27,5 % ($U = 117,2000$, $Z = -3,547444$ при $p = 0,000000$) по сравнению с животными 1 группы, и в тоже время она была на 18,8 % меньше ($U = 168,1000$, $Z = -3,541111$ при $p = 0,000251$) по сравнению с животными 2 группы.

Концентрация IL-6 в тканях печени крыс 2 группы на 37 сутки опыта была больше на 34,0 % ($U = 172,6000$, $Z = -3,582221$ при $p = 0,0$) по

Таблица 1. Концентрация цитокинов в тканях печени крыс в норме и на фоне нагрузки антиоксидантами при индуцированном оксидативном стрессе

Группы	Цитокины						
	IL-1α, пг/мл	IL-6, пг/мл	IL-18, пг/мл	TNFα, пг/мл	IFNγ, пг/мл	IL-10, пг/мл	TGF-β, пг/мл
1	951,25± 34,25	28,31± 0,88	562,31± 20,23	688,18± 24,78	951,31± 30,44	180,86± 6,51	822,25± 29,60
2	1493,62± 53,77 ¹	37,93± 1,17 ¹	783,43± 28,21 ¹	1162,13± 37,19 ¹	729,27± 23,34 ¹	512,37± 16,9 ¹	239,41± 8,37 ¹
3	1295,84± 57,38 ^{1,2}	35,61± 1,13 ¹	703,21± 22,51 ^{1,2}	1039,22± 33,25 ^{1,2}	813,61± 26,04 ^{1,2}	380,59± 12,55 ^{1,2}	621,29± 21,75 ^{1,2}
4	1212,36± 61,28 ^{1,2}	36,30± 1,31 ¹	691,45± 23,52 ^{1,2}	997,81± 31,93 ^{1,2}	851,14± 27,24 ^{1,2}	336,44± 11,77 ^{1,2}	579,34± 18,54 ^{1,2}

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $P < 0,05$: ¹ — по сравнению с показателями интактных животных; ² — по сравнению с показателями контрольной группы крыс с индуцированным оксидативным стрессом.

сравнению с животными 1 группы. В тканях печени крыс 3 группы установлено увеличение концентрации IL-6 на 25,8 % ($U = 131,5000$, $Z = -2,412221$ при $p = 0,000000$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была ниже на 6,1 % по сравнению с показателями второй группы. В тканях печени крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации IL-6 на 28,2 % ($U = 147,6000$, $Z = -3,511733$ при $p = 0,003441$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была на 4,3 % меньше показателей крыс второй группы.

Концентрация IL-18 в тканях печени крыс второй группы на 37 суток опыта была на 39,3 % ($U = 121,2000$, $Z = -3,362221$ при $p = 0,000415$) больше, чем у интактных животных. В тканях печени крыс третьей группы установлено увеличение концентрации IL-18 на 25,1 % ($U = 164,30000$, $Z = -2,937741$ при $p = 0,000215$) по сравнению с животными 1 группы, и при этом она была меньше на 10,2 % ($U = 177,30000$, $Z = -4,569912$ при $p = 0,000001$) по сравнению с показателями второй группы. В тканях печени крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации IL-18 на 22,9 % ($U = 136,6000$, $Z = -3,844741$ при $p = 0,002495$) по сравнению с животными первой группы, но при этом концентрация IL-18 была на 11,7 % ($U = 161,1000$, $Z = -2,921114$ при $p = 0,000012$) меньше показателей второй группы.

В тканях печени крыс второй группы по сравнению с животными первой группы установлено увеличение концентрации TNF α на 68,9 % ($U = 201,7000$, $Z = -2,694117$ при $p = 0,000217$) на 37 суток опыта. В тканях печени крыс третьей группы также установлено увеличение концентрации TNF α на 51,0 % ($U = 155,7000$, $Z = -3,463251$ при $p = 0,000119$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была

на 10,6 % меньше ($U = 114,4000$, $Z = -4,176621$ при $p = 0,000017$) по сравнению с животными второй группы. В тканях печени крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации TNF α на 44,9 % ($U = 201,50000$, $Z = -3,561141$ при $p = 0,000421$) по сравнению с животными первой группы, и в то же время она была на 14,1 % меньше ($U = 133,3000$, $Z = -2,726221$ при $p = 0,000001$) по сравнению с животными второй группы.

Концентрация IFN γ в тканях печени крыс второй группы на 37 суток опыта была меньше на 23,3 % ($U = 191,5000$, $Z = -3,533222$ при $p = 0,000019$) по сравнению с показателями животных первой группы. В тканях печени крыс третьей группы установлено уменьшение концентрации IFN γ на 14,5 % ($U = 172,8000$, $Z = -3,782221$ при $p = 0,000227$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была больше на 11,6 % ($U = 196,3000$, $Z = -4,371114$ при $p = 0,000026$) по сравнению с показателями второй группы. В тканях печени крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено снижение концентрации IFN γ на 10,5 % ($U = 107,3000$, $Z = -3,752221$ при $p = 0,003333$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была на 16,7 % ($U = 128,6000$, $Z = -4,163312$ при $p = 0,000184$) больше показателей крыс второй группы.

В тканях печени крыс второй группы по сравнению с интактными животными установлено увеличение концентрации IL-10 в 2,8 раза ($U = 139,2000$, $Z = -3,496339$ при $p = 0,000013$) на 37 суток опыта. В тканях печени крыс 3 группы также установлено увеличение концентрации IL-10 в 2,1 раза ($U = 191,2000$, $Z = -3,496332$ при $p = 0,000011$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была на 25,7 % меньше ($U = 107,9000$, $Z = -3,322622$ при $p =$

Таблица 2. Концентрация цитокинов в плазме крови крыс в норме и на фоне нагрузки растительными экстрактами при индуцированном оксидативном стрессе

Группы	Цитокины			
	TNF α , пг/мл	IL-6, пг/мл	IL-18, пг/мл	IL-10, пг/мл
1	16,29 $\pm$ 0,59	40,19 $\pm$ 1,41	5,61 $\pm$ 0,21	3589,13 $\pm$ 122,0
2	571,36 $\pm$ 18,28 ¹	42,44 $\pm$ 1,51	8,42 $\pm$ 0,29 ¹	89,58 $\pm$ 2,93 ¹
3	486,41 $\pm$ 17,15 ^{1,2}	51,28 $\pm$ 1,99 ^{1,2}	8,03 $\pm$ 0,33 ¹	829,32 $\pm$ 30,68 ^{1,2}
4	493,61 $\pm$ 17,29 ^{1,2}	59,31 $\pm$ 1,85 ^{1,2}	8,17 $\pm$ 0,27 ¹	993,69 $\pm$ 35,21 ^{1,2}

Примечание. В этой таблице различия достоверны при $P < 0,05$: ¹ — по сравнению с показателями интактных животных; ² — по сравнению с показателями контрольной группы крыс с индуцированным оксидативным стрессом.

0,000297) по сравнению с животными второй группы. В тканях печени крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации IL-10 в 1,9 раза ($U = 122,8000$, $Z = -3,496332$ при $p = 0,000321$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была на 34,3 % меньше ($U = 119,3000$, $Z = -4,396666$ при $p = 0,000022$) по сравнению с показателями второй группы.

Концентрация TGF- β в тканях печени крыс второй группы на 37 сутки опыта была в 3,4 раза меньше ($U = 149,1000$, $Z = -3,633333$ при $p = 0,000333$) по сравнению с показателями животных первой группы. В тканях печени крыс 3 группы установлено уменьшение концентрации TGF- β на 24,4 % ($U = 193,3000$, $Z = -3,196621$ при $p = 0,000000$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была больше в 2,6 раза ($U = 181,2000$, $Z = -3,732221$ при $p = 0,000001$) по сравнению с показателями второй группы. В тканях печени крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено снижение концентрации TGF- β на 29,5 % ($U = 129,6000$, $Z = -3,233222$ при $p = 0,002221$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была в 2,4 раза ($U = 191,8000$, $Z = -3,611711$ при $p = 0,002633$) больше показателей крыс второй группы.

Результаты исследования концентрации цитокинов в плазме крови экспериментальных животных в норме, на фоне нагрузки антиоксидантами при индуцированном оксидативном стрессе представлены в таблице 2.

В плазме крови крыс второй группы по сравнению с животными первой группы установлено увеличение концентрации TNF α в 35,1 раза ($U = 113,100$, $Z = -2,547741$ при $p = 0,000013$) на 37 сутки опыта, что свидетельствует о токсическом поражении печени тетрахлорметаном и интенсивном оксидативном стрессе. В плазме крови крыс 3 группы также установлено увеличение концентрации TNF α в 29,9 раза ($U = 191,3000$, $Z = -3,844711$ при $p = 0,000001$) по сравнению с животными первой группы, и при этом она была на 14,8 % меньше ($U = 161,1000$, $Z = -2,744141$ при $p = 0,000291$) по сравнению с животными второй группы. В плазме крови крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации TNF α в 30,3 раза ($U = 197,8000$, $Z = -3,147111$ при $p = 0,000119$) по сравнению с животными 1 группы, и в то же время она была на 13,6 % меньше ($U = 125,6000$, $Z = -2,966744$ при $p = 0,000341$) по сравнению с животными 2 группы.

Концентрация IL-6 в плазме крови крыс 2 группы на 37 сутки опыта была незначительно больше, чем у животных 1 группы. В плазме крови крыс 3 группы установлено увеличение концентрации

IL-6 на 27,5 % ($U = 154,1000$, $Z = -2,726622$ при $p = 0,000214$) по сравнению с животными 1 группы и увеличение на 26,1 % ($U = 112,20000$, $Z = -2,463332$ при $p = 0,003333$) по сравнению с животными 2 группы. В плазме крови крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации IL-6 на 47,5 % ($U = 181,7000$, $Z = -4,314447$ при $p = 0,002144$) по сравнению с животными 1 группы и увеличение на 39,8 % ($U = 137,5000$, $Z = -2,641117$ при $p = 0,003141$) по сравнению с животными 2 группы.

Концентрация IL-18 в плазме крови крыс 2 группы на 37 сутки опыта была на 50,1 % ($U = 139,8000$, $Z = -2,647711$ при $p = 0,000000$) больше, чем у животных 1 группы. В плазме крови крыс 3 группы установлено увеличение концентрации IL-18 на 43,1 % ($U = 141,10000$, $Z = -3,647711$ при $p = 0,000371$) по сравнению с животными 1 группы и уменьшение на 4,6 % по сравнению с животными 2 группы. В плазме крови крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено увеличение концентрации IL-18 на 45,6 % ($U = 167,1000$, $Z = -2,921111$ при $p = 0,003111$) по сравнению с животными 1 группы, но при этом концентрация IL-18 была сопоставима с показателями животных второй группы.

В плазме крови крыс 2 группы по сравнению с животными 1 группы установлено уменьшение концентрации IL-10 в 40,1 раза ($U = 129,8000$, $Z = -3,697111$ при $p = 0,000119$) на 37 сутки опыта. В плазме крови крыс 3 группы также установлено уменьшение концентрации IL-10 в 4,3 раза ($U = 151,1000$, $Z = -4,523332$ при $p = 0,000114$) по сравнению с животными 1 группы и увеличение в 9,2 раза ($MaU = 147,5000$, $Z = -3,723361$ при $p = 0,000118$) по сравнению с животными 2 группы. В плазме крови крыс 4 группы наблюдалась аналогичная тенденция — установлено уменьшение концентрации IL-10 в 3,6 раза ($U = 191,1000$, $Z = -3,385541$ при $p = 0,002223$) по сравнению с животными 1 группы и увеличение в 11,1 раза ($U = 139,6000$, $Z = -3,347114$ при $p = 0,000001$) по сравнению с животными 2 группы.

По результатам эксперимента установлено, что при токсическом поражении печени тетрахлорметаном количество синусоидальных клеток в тканях печени снижается, но предварительная нагрузка крыс в течение 30 суток водными экстрактами пижмы и ежевики и параллельная с CCl₄ нагрузка в течение 6 суток способствовала не столь резкому снижению количества синусоидальных клеток в тканях печени, как у крыс контрольной группы.

При возникновении оксидативного стресса в плазме крови наблюдается усиленная выработка провоспалительного цитокина TNF α и подавление продукции IL-10, при этом концентрация

провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-18 изменяется не существенно. При этом в ответ на диффузное токсическое повреждение печени и возникновение оксидативного стресса в тканях печени отмечается увеличение концентрации цитокинов IL-1 α , IL-18, TNF α , IL-10 и снижение концентрации IL-6, IFN γ , TGF- β . Повышенная продукция IL-1 α и IL-18 в тканях 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.

Заключение. Водные экстракты пижмы и ежевики в разной степени модулируют функциональное состояние синусоидальных клеток в ранние сроки токсического воздействия тетрахлорметаном, что способствует скорейшему разрешению воспалительного процесса. Воздействие водных экстрактов пижмы и ежевики на синусоидальные клетки изменяет продукцию регуляторных факторов, что компенсирует скорость восстановительных процессов после токсического воздействия.

Литература

1. Балуква Е. В. Поражения печени различного генеза (токсического, лекарственного, дисметаболического): от этиологической гетерогенности к единой унифицированной терапии пациентов / Е. В. Балуква, Ю. П. Успенский, Ю. А. Фоминых // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. — 2018. — №1(I). — С. 35–40.
2. Зинчук В. В. Участие кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени / В. В. Зинчук, М. Н. Ходосовский // Успехи физиологических наук. — 2006. — № 4. — С. 45–56.
3. Мышкин В. А. Морфофункциональные нарушения при токсическом поражении печени взрослых и старых крыс тетрахлорметаном и коррекция их комплексным соединением янтарной кислоты с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом / В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев, И. Д. Габдрахманова // Томск, 2020. — С. 86.
4. Шафигуллина З. А. Регенераторный ответ гепатоцитов при диффузном токсическом повреждении / З. А. Шафигуллина, И. Ф. Гетте, И. Г. Данилова // Вестник уральской медицинской академической науки. — 2020. — Том 17. — № 4. — С. 313–322. Doi: 10.22138/2500-0918-2020-17-4-313-322.
5. Пригулина Ю. Г. Анализ цитокинового статуса при ряде инфекционных заболеваний / Ю. Г. Пригулина, И. В. Криворучко, В. В. Шенцова, Г. В. Филь, Д. С. Астапченко, Л. А. Сахарова // Успехи современного естествознания. — 2014. — № 2. — С. 16–20.
6. Kumar G. L., Rudbeck L. Education guide // Immunohistochemical (IHC) staining methods. Dako North America, Carpinteria, California, 2009. 160 p.
7. Zah M. N. Measurement of serum, liver, and brain cytokine induction, thiamine levels, and hepatopathology in rats exposed to a 4-day alcohol binge protocol / M. N. Zah, R. Luon, E. V. Sullivan, A. Pfefferbauer // Alcohol. Clin. Exp. Res. — 2010. — Vol. 34. — № 11. — P. 1858-1870.

Pavlova O.¹, Gulenko O.¹, Gromova D.¹, Kuzina E.²

Study of immune mechanisms in liver tissues and blood plasma of rats against the background of loading with plant extracts and induced oxidative stress

Abstract.

Pathologies of the hepatobiliary system occupy a significant share in the total structure of diseases. Morphological changes that develop in the liver during its toxic damage are based on cytolysis of hepatocytes. Metabolic disorders arising from exposure to tetrachloromethane may alter the production of anti-inflammatory and anti-inflammatory cytokines by cells of the immune system. The aim of our study was to investigate reparative processes and immune mechanisms in rat liver tissues against the background of loading with aqueous extracts of blackberry and common sawfly and induced oxidative stress.

Materials and methods. 120 rats were used in the experiment. According to group affiliation animals received aqueous extracts of common and blackberry in a dose of 50 mg/100g of animal weight, 1.5 ml daily for 30 days, and animals of the control group received distilled water in the same regime. Starting from 30 days of the experiment, rats were injected with tetrachloromethane oil solution at a dose of 2 g/kg of animal weight in parallel with the administration of plant extracts for 6 days. On the 37th day of the experiment, blood was taken from the animals and then killed according to ethical standards. Histological preparations were made from liver tissues and the number of sinusoidal cells was counted. The content of cytokines in rat liver homogenates and blood plasma was determined by enzyme-linked immunosorbent assay using a Lazurite Automated ELISA System.

Results. In case of oxidative stress in blood plasma there is an increased production of proinflammatory cytokine *TNF α* and suppression of *IL-10* production, while the concentration of proinflammatory cytokines *IL-6* and *IL-18* does not change significantly. At the same time, in response to diffuse toxic liver damage and oxidative stress in liver tissues there is an increase in the concentration of cytokines *IL-1 α* , *IL-18*, *TNF α* , *IL-10* and a decrease in the concentration of *IL-6*, *IFN γ* , *TGF- β* . Increased production of *IL-1 α* and *IL-18* in liver tissues seems to trigger local inflammation by increasing the levels of cytokines such as *TNF α* , *IL-6*. The increased concentration of anti-inflammatory cytokine *IL-10* confirms the key role of this mediator in the regulation of immune response and its ability to suppress the secretion of pro-inflammatory cytokines *TNF α* and *IL-6*. Conclusion. The aqueous extracts of fir and blackberry modulate to different degrees the functional state of sinusoidal cells in the early periods of toxic exposure to tetrachloromethane, which contributes to the early resolution of the inflammatory process. Exposure of aqueous extracts of fir and blackberry to sinusoidal cells changes the production of regulatory factors, which compensates the speed of recovery processes after toxic exposure.

Key words: blood, biochemical analysis, protein profile, protein fractions, cattle.

Authors:

Pavlova O. — Dr Habil. (Biol. Sci.); e-mail: casiopeya13@mail.ru;

Gulenko O. — PhD. (Biol. Sci.); e-mail: gulenko_ol@mail.ru;

Gromova D. — e-mail: d.s.gromova@samsmu.ru;

Kuzina E. — Assistant of the Department of Medical and Biological Disciplines.

¹Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 443099; Russia, Samara region, Samara, St. Chapaevskaya, 89.

² Medical University" Reviz; 443001, Russia, Samara region, Samara, st. Chapaevskaya, d. 227.

References

1. Balukova E. V. Balukova liver of various genesis (toxic, drug, dysmetabolic): from etiological heterogeneity to unified therapy of patients / E. V. Balukova, Yu. P. Uspensky, Yu. A. Fomini // Russian Medical Journal. Medical review. — 2018. — № 1 (I). — P. 35–40.
2. Zinchuk V.V. The participation of oxygen -dependent processes in pathogenesis of reperfusion damage to the liver / V. V. Zinchuk, M. N. Khodosovsky // Success of physiological sciences. — 2006. — № 4. — P. 45–56.
3. Myshkin V. A. Morphofunctional disorders with toxic damage to the liver of adults and old rats with tetrachlorometan and correction by their complex compound of amber acid with 1.3.6-trimethyl-5-hydroxyuracil / V. A. Myshkin, D. A. Enikeev, I. D. Gabdrakhmanova // Tomsk, 2020. — P. 86.
4. Shafigullina Z. A. The regenerative response of hepatocytes with diffuse toxic damage / Z. A. Shafigullina, I.F. Gette, I. G. Danilova // Bulletin of the Ural Medical Academic Science. — 2020. — Vol. 17. — № 4. — P. 313–322. Doi: 10.22138/2500-0918-2020-17-4-313-322.
5. Protulina Yu. G. Analysis of cytokine status in a number of infectious diseases / Yu. G. Protulina, I.V. Krivoruchko, V.V. Shensov, G.V. Fel, D. S. Astapchenko, L. A. Sakharov // Successes of modern natural science. — 2014. — № 2. — P. 16–20.
6. Kumar G. L., Rudbeck L. Education guide // Immunohistochemical (IHC) staining methods. Dako North America, Carpinteria, California, 2009. 160 p.
7. Zah M. N. Measurement of serum, liver, and brain cytokine induction, thiamine levels, and hepatopathology in rats exposed to a 4-day alcohol binge protocol / M. N. Zah, R. Luon, E. V. Sullivan, A. Pfefferbauer // Alcohol. Clin. Exp. Res. — 2010. — Vol. 34. — № 11. — P. 1858-1870.