

## СОСТОЯНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРИ ДИФФУЗНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПЕЧЕНИ И ЕГО КОРРЕКЦИИ

© 2019 г. С. Ю. Медведева<sup>1,2</sup>, З. А. Шафигуллина<sup>1,2\*</sup>, И. Г. Данилова<sup>1,2</sup>

\*E-mail: zлата\_pyankova@mail.ru

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»,  
Институт естественных наук и математики, Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук»,  
Екатеринбург, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 11.03.2019

На модели диффузного токсического повреждения печени тетрахлорметаном (CCl<sub>4</sub>) и его коррекции аминокетидом (АФГ) у крыс проведена оценка реакции тучных клеток (ТК) и степени фиброза. Структурные нарушения и угнетение регенераторных процессов в печени в условиях химической травмы сопровождались усилением миграции ТК в портальную строму и увеличением содержания секреторных гранул в них. Применение АФГ способствует нормализации площади, занимаемой коллагеном в ткани печени, и снижает количество ТК, но поддерживает высокое содержание секреторных гранул в них.

**Ключевые слова:** тучные клетки, коллаген, печень, тетрахлорметан

DOI: 10.31857/S102872210006647-6

Адрес: 620049 Екатеринбург, ул. Первомайская 106, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук», лаборатория морфологии и биохимии, Медведева Светлана Юрьевна.

Тел./факс: +7 (343) 374 00 70.

E-mail: medvedeva-ran@yandex.ru

**Авторы:**

**Медведева С. Ю.**, к.м.н., доцент кафедры медицинской биохимии и медицинской биофизики Уральского федерального университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, ведущий научный сотрудник Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия;

**Шафигуллина З. А.** аспирант Уральского федерального университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Институт естественных наук и математики, м.н.с. Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия;

**Данилова И. Г.**, д.б.н., доцент, заведующая лабораторией морфологии и биохимии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Токсическое повреждение печени сопровождается развитием воспалительной реакции. Одним из проявлений воспаления является ак-

тивация клеточных элементов синтезирующих коллаген и гликозаминогликаны. Известно, что в регуляции восстановительных процессов при повреждении печени участвуют клеточные элементы соединительной ткани, в частности, тучные клетки (мастоциты). ТК являются биологическими регуляторами, поскольку могут синтезировать цитокины, молекулы адгезии, гликозаминогликаны, участвуют во всех фазах воспаления, регулируют репаративные процессы в различных органах [1]. Неадекватное количество и (или) функциональная активность ТК может сопровождаться нарушением соотношения фаз воспалительного процесса и проявляться в виде увеличения некротизированных клеток, развития цирроза и как следствие, угнетение регенераторных процессов в печени. При длительном воздействии патогенного фактора в печени усиливается образование коллагеновых структур, что способствует развитию фиброза. В связи с этим, целью исследования было оценить реакцию ТК и степень фиброза печени при диффузном токсическом повреждении печени и его коррекции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент по моделированию диффузного токсического повреждения печени был выполнен на 40 крысах-самцах линии Wistar массой  $180 \pm 10$  г, одобрен локальным этическим комитетом Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН и соответствует принципам Директивы 2010/63/ЕС Европейского парламента и Европейского Совета по защите животных, используемых в научных целях.

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 крысам однократно внутривентриально в дозе 50 мг/100 г массы тела. Инъекции аминоталгидразида осуществлялись в течение всего эксперимента внутримышечно из расчета 2 мг/кг. Интактную группу составляли здоровые животные. Животных опытных групп выводили из эксперимента на 3, 7 и 14 сутки передозировкой диэтилового эфира.

Тучные клетки печени выявляли при окраске гистологических срезов толуидиновым синим, с помощью программы Leica Application Suite (V4) подсчитывали их количество в единице площади в 20-ти полях зрения при увеличении  $\times 1000$  микроскопа Leica DM 2500. Для оценки функциональной активности ТК измеряли интенсивность окрашивания толуидиновым синим сульфатированных гликозаминогликанов в составе секреторных гранул цитоплазмы, показатель выражали в единицах оптической плотности.

Для выявления коллагена в ткани печени проводили окрашивание гистологических срезов пикросириусом красным. С использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM 710 (ZEISS) и стандартных фильтров FITC и родамин получали изображения в формате jpg [2]. Далее с помощью программы ImageJ проводили подсчет площади коллагена и выражали в процентах от общей площади ткани.

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью пакета программ Statistica 10.0 и непараметрического критерия Манна-Уитни для 2-х независимых выборок ( $p < 0.05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В соответствии с морфометрическими данными на 3 сутки после введения токсиканта от-

мечается достоверное увеличение количества ТК с  $51,2 \pm 4,9$  кл/мм<sup>2</sup> (интактная группа) до  $94,7 \pm 12,7$ , а также увеличение количества секреторных гранул в каждой ТК с  $0,045 \pm 0,011$  ус. ед. до  $0,071 \pm 0,015$  ус. ед. относительно показателей интактных животных. Данное увеличение может быть обусловлено миграцией ТК в место повреждения. В модели индуцированного  $CCl_4$  повреждения печени рядом исследователей было обнаружено увеличение числа ТК в портальных областях, которое постепенно возрастало по мере увеличения степени фиброза [3]. На 7 и 14 сутки воздействия  $CCl_4$  количество ТК увеличивается до значений  $219,76 \pm 35,95$  кл/мм<sup>2</sup> и  $210,6 \pm 33,23$  кл/мм<sup>2</sup> соответственно, а снижение оптической плотности свидетельствует об активной дегрануляции. Применение АФГ приводит не только к увеличению числа ТК, но и способствует повышению содержания секреторных гранул в них.

При оценке степени фиброза в ткани печени на фоне токсического воздействия на 3 и 7 сутки отмечается незначительное увеличение средней площади, занимаемой коллагеном. На 14 сутки площадь коллагена возрастает в 5 раз по сравнению с показателями интактных животных. На фоне применения АФГ на 3 и 14 сутки отмечается уменьшение площади коллагена в печени по сравнению с группами соответствующего срока без лечения.

## ВЫВОДЫ

Токсическое действие  $CCl_4$  приводит к увеличению площади занимаемой коллагеном и сопровождается миграцией тучных клеток в портальную строму, а также увеличением содержания секреторных гранул в них. Применение АФГ способствует уменьшению площади коллагена и количества тучных клеток в печени крыс при диффузном токсическом повреждении. Вероятно, использование агентов, стабилизирующих миграцию тучных клеток в печень, может способствовать уменьшению альтерации и стимуляции регенерации.

Исследование проведено с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН и в рамках бюджетной программы № Гос. регистрации – АААА-А18-118020590107-0.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Юшков Б. Г., Черешнев В. А., Климин В. Г., Арташян О. С. Тучные клетки: физиология и патофизиология. Медицина, М 2011, 240. [Yushkov B. G.,

- Chereshnev V.A., Klimin V.G., Artashyan O.S.* Mast cells: physiology and pathophysiology. *Medicine*, M 2011. 240].
2. *Vogel B., Siebert H., Hofmann U., Frantz S.* Determination of collagen content within picrosirius red stained paraffin-embedded tissue sections using fluorescence microscopy. *MethodsX*. 2015, 2, 124–134.
3. *Francis H., Cynthia J., Meininger A.* Review of mast cells and liver disease: What have we learned? *Digestive and Liver Disease*. 2010, 42, 529–536.

## THE STATE OF CONNECTIVE TISSUE ELEMENTS OF THE LIVER WITH DIFFUSE TOXIC DAMAGE AND ITS CORRECTION

© 2019 S. Yu. Medvedeva<sup>1,2</sup>, Z. A. Shafigullina<sup>1,2\*</sup>, I. G. Danilova<sup>1,2</sup>

\*E-mail: z\_lata\_pyankova@mail.ru

<sup>1</sup>*Institute of Natural Sciences and Mathematics of the Ural Federal University named after the first President of Russia Boris Yeltsin. Ekaterinburg, Russia;*

<sup>2</sup>*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of RAS. Ekaterinburg, Russia*

Received: 27.02.2019. Accepted: 11.03.2019

An experimental model of diffuse toxic rat liver damage with carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) and its correction by aminophthalhydrazide (APH) was used to evaluate the response of mast cells and the degree of fibrosis. Structural disorders and suppression of regenerative processes in the liver under conditions of chemical trauma were accompanied by increased migration of mast cells to the portal stroma and an increased content of secretory granules in them. The use of APH contributes to the normalization of the area, occupied by collagen in the liver tissue, and reduces the number of mast cells, but maintains a high content of secretory granules in them.

*Key words:* mast cells, collagen, liver, carbon tetrachloride

### Authors:

**Medvedeva S. Yu.**, ✉ Ph.D. of Medical Sciences Institute of Natural Sciences and Mathematics of the Ural Federal University named after the first President of Russia Boris Yeltsin, associate professor leading researcher of the Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of RAS, Ekaterinburg, Russia. **E-mail:** medvedeva-ran@yandex.ru;

**Shafigullina Z. A.**, post-graduate student of the Ural Federal University named after the first President of Russia Boris Yeltsin, junior researcher of the Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of RAS, Ekaterinburg, Russia;

**Danilova I. G.**, doctor of biological sciences, associate professor of the Ural Federal University named after the first President of Russia Boris Yeltsin, head of the Laboratory of Morphology and Biochemistry of the Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of RAS, Ekaterinburg, Russia.