

УДК 619:616.3

DOI: 10.24412/1999-6837-2021-2-97-104

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ НПВП-ИНДУЦИРОВАННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ У ЖИВОТНЫХ

Людмила Викторовна Лазаренко

Пермский институт ФСИН России, г. Пермь

Резюме. При реактивных изменениях паренхимы печени и поджелудочной железы, индуцированных длительным приемом нестероидных противовоспалительных препаратов, у экспериментальных животных проявляется экспрессия рецепторов цитокинов фактора некроза опухоли альфа (TNF- α R1) и интерлейкина-2 (IL2R α).

Аннотация. Вопрос о механизмах лекарственных НПВП-поражений печени остается актуальным. Также нет единого мнения об НПВП, как причине поражения поджелудочной железы. Изучение вопросов, связанных с участием цитокинов в различных клеточных реакциях, ведется давно. Известно, что изменение уровня экспрессии рецепторов цитокинов имеет большое значение в оценке функционального ответа клетки в развитии патологических состояний. Цель – изучить проявление экспрессии рецепторов фактора некроза опухоли и интерлейкина-2.

Материал и методы. Опытные группы нелинейных крыс, получавших разные дозировки нимесулида и карпрофена. Для исследования образцов ткани печени и поджелудочной железы применяли иммуногистохимические методы. Результаты исследования. Показано участие фактора некроза опухоли и интерлейкина-2 в развитии реактивных изменений органов, связанных с длительным приемом НПВП. Обнаружено, что экспрессия рецепторов цитокинов проявляется уже при использовании минимальных доз НПВП. Уровень проявления экспрессии зависит от дозировки препаратов (дозозависимый эффект).

Ключевые слова: НПВП-гепатопатия, НПВП-панкреопатия, фактор некроза опухоли, интерлейкин-2.

PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE PATHOGENESIS OF NSAID-INDUCED LESIONS OF THE DIGESTIVE GLANDS IN ANIMALS

L.V. Lazarenko

Perm Institute of the Federal Penitentiary Service, Perm

Abstract. The question of the mechanisms of medicinal NSAID lesions of the liver remains relevant. There is also no consensus about NSAIDs as the cause of pancreatic damage. The study of issues related to the participation of cytokines in various cellular reactions has been carried out for a long time. It is known that a change in the expression level of cytokine receptors is of great importance in assessing the functional response of a cell in the development of pathological conditions. The purpose of research is to study the expression of tumor necrosis factor receptors and interleukin-2 receptors. Material and methods. There were experimental groups of non-linear rats receiving different dosages of nimesulide and carprofen. The immunohistochemical methods were used to study tissue samples of the liver and pancreas. Research results. The participation of tumor necrosis factor and interleukin-2 in the development of reactive organ changes associated with long-term use of NSAIDs has been shown. It was found that the expression of cytokine receptors is

manifested even with the use of minimal doses of NSAIDs. The level of expression manifestation depends on the dosage of the drugs (dose-dependent effect).

Key words: NSAID-hepatopathy, NSAID-pancreatopathy, tumor necrosis factor, interleukin-2.

Введение. Известно, что длительное использование нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) приводит к нарушению функций многих органов и систем, в первую очередь – к патологии желудочно-кишечного тракта. В научной литературе появляется все больше работ, посвященных вопросам влияния НПВП на паренхиматозные органы пищеварительной системы [8, 9].

Нет единого мнения о механизмах лекарственного поражения печени, поскольку изучение гепатотоксичности, вызванной применением лекарственных препаратов, представляет определенную сложность, связанную с отсутствием характерных клинических симптомов. При этом биохимические показатели функционального состояния печени являются неспецифичными и наблюдаются при заболеваниях другой этиологии. Что касается информации о НПВП как причине поражения поджелудочной железы, то ее крайне недостаточно. Таким образом, вопросы, связанные с изучением механизмов возникновения осложнений при использовании НПВП, остаются нерешенными.

Изучение проблем, связанных с участием цитокинов в различных клеточных реакциях, ведется давно. Достаточно всесторонне изучен механизм влияния на клетки тканей фактора некроза опухоли (TNF- α). TNF- α – провоспалительный цитокин, который участвует в различных клеточных процессах: дифференцировки и пролиферации, апоптоза, воспаления, иммунных реакций. Его действие на клетку происходит через рецептор, экспрессирующийся на клеточной мембране [1]. Интерлейкин-2 (IL-2) синтезируется

T-лимфоцитами как ответная реакция на антиген. Действие IL-2 также реализуется через рецептор – IL-2R (CD25), который появляется на поверхности клеток в ответ на иммуногенный сигнал [4].

По мнению Сенникова С. В. с соавт. (2019), изменение уровня экспрессии рецепторов цитокинов имеет большое значение в оценке функционального ответа клетки на влияние негативных факторов и в развитии патологических состояний [7].

Цель исследования – изучить характер проявления и провести сравнительную оценку уровня экспрессии цитокинов фактора некроза опухоли и интерлейкина-2 в паренхиме печени и поджелудочной железы у экспериментальных животных, которым длительно применяли НПВП.

Материалы и методы. Исследования выполнены в научно-исследовательской лаборатории Пермского государственного медицинского университета имени академика Е. А. Вагнера на нелинейных белых крысах 4–6 – месячного возраста (использовали самцов и самок), содержащихся в стандартных условиях вивария; доступ к воде и корму не ограничен.

Для моделирования патоморфологических нарушений печени и поджелудочной железы использовали препараты нимесулид (Найз®) и карпрофен (Римадил Р), которые применяли животным в течение 21 дня. Использовали различные дозировки препаратов, с этой целью животных разделили на опытные группы, одна группа была контрольной. Всего в эксперименте было задействовано 190 животных.

Схема эксперимента представлена на рисунке 1.



Рис. 1. Схема эксперимента

Эвтаназию животных проводили по окончании эксперимента на 22-е сутки. Производили отбор проб печени и поджелудочной железы для проведения гистологических исследований. Эксперименты проведены в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г.

Вначале проводили гистологические исследования с целью оценки характера и интенсивности патоморфологических изменений паренхимы органов. Далее, образцы тканей использовали для иммуногистохимического исследования, с этой целью применяли диагностические марке-

ры TNF- α R1 и IL2R α (антитела TNFR1 (poly) и IL-2R α (poly)), видоспецифичные к тканям крысы. Препараты изготавливали на стеклах с полилизининовым покрытием Menzel.

Микроскопию гистологических препаратов производили путем просмотра 20-ти полей зрения на светооптическом уровне. Проявления экспрессии рецепторов цитокинов определяли по окрашиванию клеток (коричневый цвет).

Способы, которые использовали для оценки уровня экспрессии рецепторов фактора некроза опухоли (TNF- α R1) и рецепторов интерлейкина-2 (IL2R α), представлены на рисунке 2.

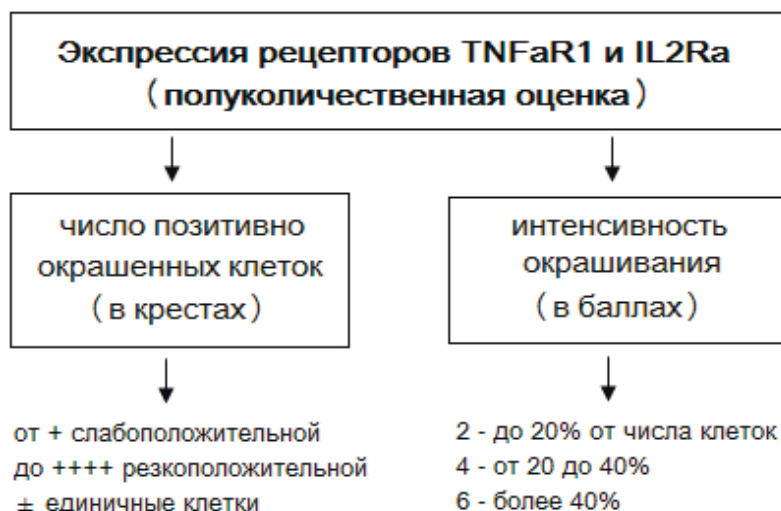


Рис. 2. Способы оценки экспрессии рецепторов TNF- α R1и IL2R α [2, 3].

Статистический анализ результатов производили с использованием критерия Стьюдента.

Анализ и обсуждение результатов исследования. При проведении гистологических исследований образцов печени и поджелудочной железы были выявлены патоморфологические изменения в паренхиме органов. Они имели дозозависимый эффект, который при увеличении дозировок препаратов проявлялся повышением доли патологических нарушений, таких как сосудистые расстройства, дистрофические изменения, некрозы с очагами регенерации [5, 6]. В паренхиме поджелу-

дочной железы также выявлялся фиброз междольковой соединительной ткани.

После гистологической оценки исследовали экспрессию рецепторов цитокинов в паренхиме печени и поджелудочной железы у животных, получавших разные дозировки нимесулида и карпрофена.

Для проведения сравнительной оценки по определению уровня экспрессии рецепторов цитокинов TNF- α R1 и IL2R α в паренхиме печени и поджелудочной железы у животных опытных групп были использованы результаты 8-ми серий иммуногистохимических исследований (рисунок 3).

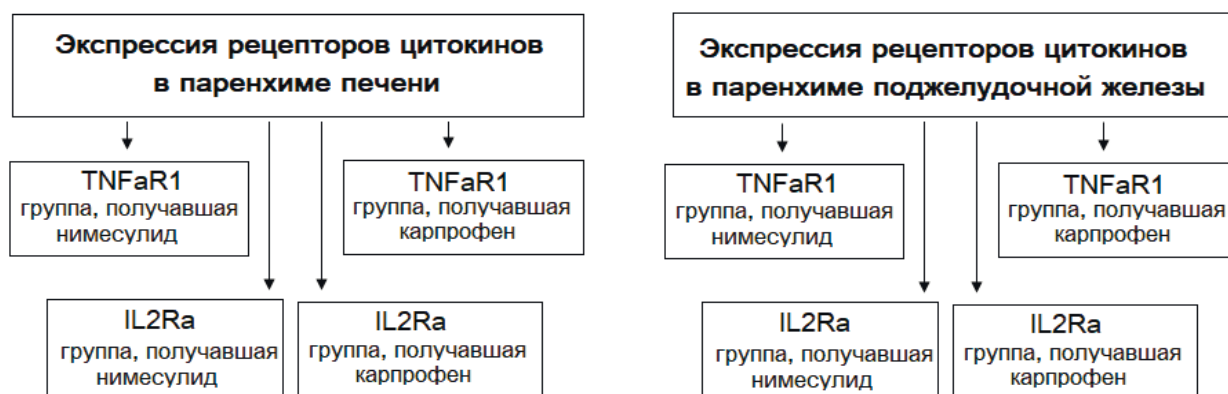


Рис. 3. Серии опытов по исследованию экспрессии рецепторов TNF- α R1 и IL2R α .

Приведены типичные примеры проявления уровня экспрессии TNF- α R1 и IL2R α в печени и поджелудочной железе.

Экспрессия рецепторов цитокинов в печени. Результаты сравнительной оценки уровня экспрессии рецепторов в паренхиме печени представлены на примере экспрессии TNF α R1 и IL-2R α у животных, получавших разные дозировки нимесулида (таблица 1, рисунок 4).

Таблица 1

Сравнительная оценка уровня экспрессии TNF α R1 и IL-2R α по интенсивности окрашивания (в крестах) в паренхиме печени у животных, получавших разные дозы нимесулида, мг/кг

Группа	Уровень экспрессии рецепторов	
	TNF α R1	IL-2R α
контрольная	±	
опытная (0,5)	+++	+++
опытная (2,5)	++++	++++
опытная (5,0)	++	++

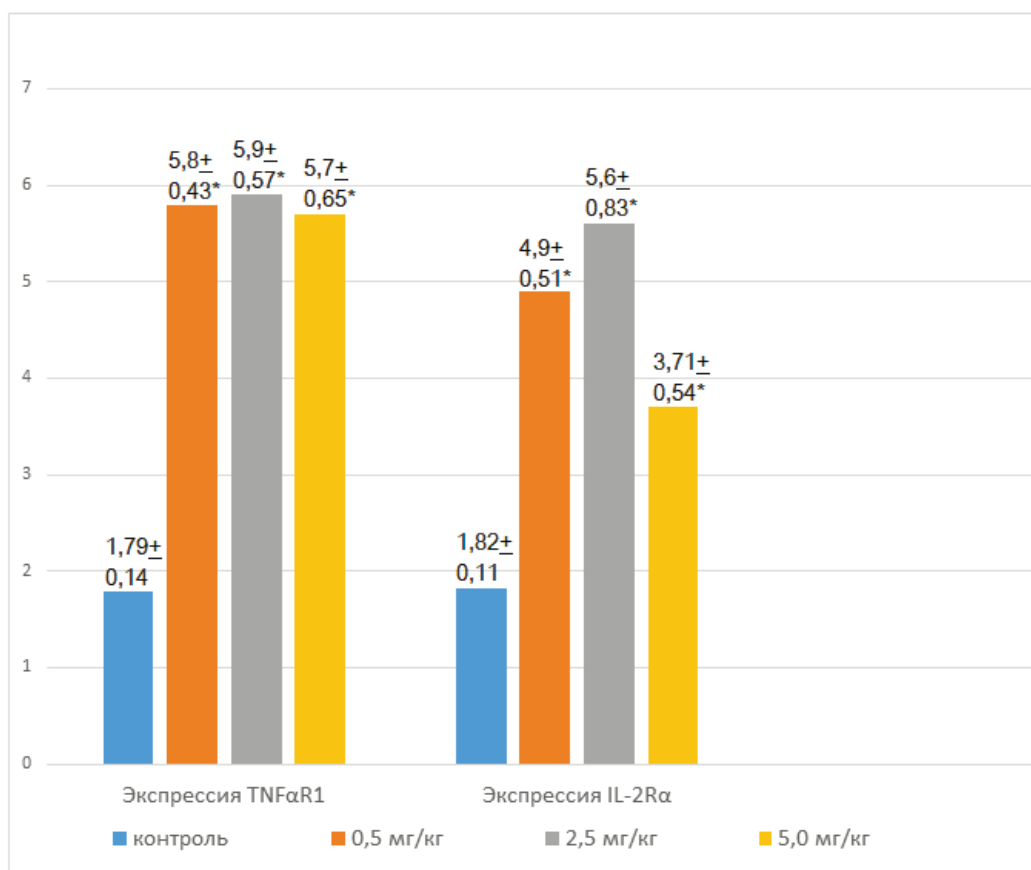


Рис. 4. Сравнительная оценка уровня экспрессии TNFαR1 и IL-2Rα по числу позитивно окрашенных клеток (в баллах) в паренхиме печени у животных, получавших разные дозы нимесулида (* p<0,05 по отношению к контрольной группе)

Экспрессия рецепторов цитокинов в поджелудочной железе. Следует отметить, что при просмотре гистологических препаратов экспрессия рецепторов TNFαR1 и IL-2Rα была обнаружена только в эндокринной части паренхимы поджелудочной железы животных. Результаты сравнительной оценки уровня экспрессии рецепторов в поджелудочной железе представлены на примере экспрессии IL-2Rα у животных, получавших разные дозировки нимесулида и карпрофена (таблицы 2, 3).

Таблица 2

Сравнительная оценка уровня экспрессии IL-2Rα по интенсивности окрашивания (в крестах) в поджелудочной железе у животных, получавших разные препараты

Уровень экспрессии IL-2Rα в опытных группах, получавших препараты			
нимесулид (дозы, мг/кг)		карпрофен (дозы, мг/кг)	
0,5 (минимальная)	+	4,0 (минимальная)	+
		8,0 (двукратная)	+++
2,5 (пятикратная)	+++	20,0 (пятикратная)	++++
5,0 (десятикратная)	++++	40,0 (десятикратная)	++++

Примечания: интенсивность окрашивания у животных контрольной группы оценивалась на «±».

Таблица 3

Сравнительная оценка уровня экспрессии IL-2R α по числу позитивно окрашенных клеток (в баллах) в поджелудочной железе у животных, получавших разные препараты

Уровень экспрессии IL-2R α в опытных группах, получавших препараты			
нимесулид (дозы, мг/кг)		карпрофен (дозы, мг/кг)	
0,5 (минимальная)	5,3 \pm 0,28 (p=0,234)	4,0 (минимальная)	3,9 \pm 0,47 (p=0,070)
		8,0 (двукратная)	5,5 \pm 0,38 (p=0,188)
2,5 (пятикратная)	5,1 \pm 0,24 (p=0,471)	20,0 (пятикратная)	5,91 \pm 0,53 (p=0,079)
5,0 (десятикратная)	5,92 \pm 0,46 (p=0,052)	40,0 (десятикратная)	5,93 \pm 0,68 (p=0,171)

Примечания: p – по отношению к контрольной группе; число позитивно окрашенных клеток у животных контрольной группы составило 4,9 \pm 0,14 баллов.

Анализ результатов, полученных при изучении проявлений экспрессии TNF- α R1 и IL2R α в паренхиме печени и поджелудочной железы, показал участие фактора некроза опухоли и интерлейкина-2 в развитии реактивных изменений органов, связанных с длительным приемом НПВП. Обнаружено, что экспрессия рецепторов цитокинов проявляется уже при использовании минимальных доз НПВП. Выявлено, что уровень проявления экспрессии зависит от дозировки препаратов (имеется дозозависимый эффект). Сравнительная оценка уровня экспрессии рецепторов провоспалительных цитокинов показала, что экспрессия как TNF- α R1, так и IL2R α в пищеварительных железах проявляется с одинаковой закономерностью.

Выводы

Иммуногистохимическая экспрессия TNF α R1 и IL-2R α в паренхиме печени

и поджелудочной железы у экспериментальных животных, получавших нимесулид и карпрофен в течение 21 дня, обнаруживает участие цитокинов (иммунного компонента) в развитии реактивных изменений органов.

Уровень экспрессии TNF α R1 и IL-2R α в паренхиме печени и поджелудочной железы зависит от дозировок нимесулида и карпрофена (имеется выраженный дозозависимый эффект).

В паренхиме печени наиболее выражена экспрессия рецепторов цитокинов при использовании доз, незначительно превышающих минимальную; при использовании высоких доз НПВП уровень экспрессии уменьшается, причиной может быть повреждение клеточной мембраны органов.

Список литературы

1. Барановский, А. Ю. Роль фактора некроза опухоли альфа в развитии аутоиммунной патологии печени: нерешенная проблема / А. Ю. Барановский, Н. В. Марченко, У. А. Мительглик, К. Л. Райхельсон // Практическая медицина. – 2014. – № 1(77). – С. 15-19.
2. Коган, Е. А. Автономность роста очагов аденомиоза: иммуногистохимические особенности экспрессии маркеров / Е. А. Коган, Н. В. Низяева, Т. А. Демуря // Иммунология. – 2011. – № 12. – С. 311–325.

3. Козлова, И. В. Гастропатия, индуцированная нестероидными противовоспалительными препаратами, у больных остеоартрозом: роль некоторых факторов диффузной эндокринной системы желудка в ее возникновении / И. В. Козлова, Т. Е. Липатова, Н. Г. Афонина, И. М. Кветной [Текст] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. – 2006. – № 1. – С. 47–53.
4. Копылова, О. И. Полиморфные маркеры генов IL2RA и IL2: популяционные различия в ассоциации с сахарным диабетом / О. И. Копылова, Т. Л. Кураева, Е. Ю. Лаврикова // Сахарный диабет. – 2012. – № 1. – С. 14–18.
5. Лазаренко, Л. В. Цитокины в патогенезе экспериментального гепатита, индуцированного применением нестероидных противовоспалительных препаратов / Л. В. Лазаренко // Вестник Пермского института ФСИН России. – 2017. – № 3 (26). – С. 54–61.
6. Лазаренко, Л. В. Патоморфологические изменения ткани печени крыс при длительном приеме нимесулида / Л. В. Лазаренко, Е. И. Самоделкин, П. В. Косарева, В. П. Хоринко / Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 141.
7. Сенников, С. В. Плотность экспрессии рецепторов к иммунорегуляторным медиаторам как модулирующий компонент биологических эффектов медиаторов на клетку (часть 2) / С. В. Сенников, А. А. Альшевская, Ю. В. Жукова, И. А. Беломестнова, А. В. Караулов, Ю. А. Лопатникова // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, №3. – С. 379–396.
8. Bort, R. Diclofenac toxicity to hepatocytes: a role for drug metabolism in cell toxicity / R. Bort, X. Ponsoda, R. Jover // Pharmacol. Exp. Ther. – 1999. – Vol. 288. – PP. 65-72.
9. Enescu, A. Drug-induced hepatitis – morphological and ultrastructural aspects / A. Enescu, P. Mitrut, E. Buteica // Romanian Journal of Morphology and Embryology. – 2007. – Vol. 48 (4). – PP. 449–454.

References

1. Baranovskij, A. Yu., Marchenko, N. V, Mitelglik, U. A., Rajhelson, K. L. Rol faktora nekroza opuholi alfa v razvitii autoimmunnoj patologii pecheni: nereshennaya problema (The role of tumor necrosis factor alpha in the development of autoimmune liver disease: an unsolved problem), Prakticheskaya medicina, 2014, No 1 (77), PP. 15-19.
2. Kogan, E. A., Nizyaeva, N. V., Demura, T. A. vtonomnost rosta ochagov adenomioza: immunogistohimicheskie osobennosti ekspressii markerov (Growth autonomy of foci of adenomyosis: immunohistochemical features of marker expression), Immunologiya, 2011, No 12, PP. 311-325.
3. Kozlova, I. V., Lipatova, T. E., Afonina, N. G., Kvetnoj, I. M. Gastropatiya, indutsirovannaya nesteroidnymi protivovospalitel'nymi preparatami, u bol'nykh osteoartrozom: rol' nekotorykh faktorov diffuznoi endokrinnoi sistemy zheludka v ee vznikhovenii (Gastropathy induced by anesthetic anti-inflammatory drugs in patients with osteoarthritis: the role of some factors of the diffuse endocrine system of the stomach in emergence), Rossijskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, kolonoproktologii, 2006, No 1, PP. 47–53.
4. Kopylova, O. I., Kuraeva, T. L., Lavrikova, E. YU. Polimorfnye markery genov IL-2RA i IL2: populyacionnye razlichiya v asociacii s saharnym diabetom (Polymorphic markerogens IL2RA and IL2: population differences in association with diabetes mellitus), Saharnyj diabet, 2012, No 1, PP. 14–18.

5. Lazarenko, L. V. Citokiny` v patogeneze e`ksperimental`nogo gepatita, inducirovannogo primeneniem nesteroidny`x protivovospalitel`ny`x preparatov (Cytokine in the pathogenesis of her experimental hepatitis induced by the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs), Vestnik Permskogo instituta FSIN Rossii, 2017, No 3 (26), PP. 54–61.
6. Lazarenko, L. V., Samodelkin, E. I., Kosareva, P. V., Horinko, V. P. Patomorfologicheskie izmeneniya tkani pecheni krysa pri dlitel`nom prieme nimesulida (Pathomorphological changes in rat liver tissue after long-term administration of nimesulide), Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya, 2015, No 3, P.141.
7. Sennikov, S. V., Alshevskaya, A. A., Zhukova, YU. V., Belomestnova, I. A., Karaulov, A. V., Lopatnikova, YU. A. Plotnost` ekspressii receptorov k immunoregulyatornym mediatoram kak moduliruyushchij component biologicheskikh effektov mediatorov na kletku (chast` 2) (Density of expressing receptors to immunoregulatory mediators as a modulating component of biological effects of mediators per cell (part 2), Medicinskaya immunologiya, 2019, T. 21, No 3, PP. 379–396.
8. Bort, R., Ponsoda, X., Jover, R. Diclofenac toxicity to hepatocytes: a role for drug metabolism in cell toxicity, Pharmacol. Exp. Ther., 1999, Vol. 288, PP. 65-72.
9. Enescu, A., Mitrut, P., Buteica, E. Drug-induced hepatitis – morphological and ultrastructural aspects, Romanian Journal of Morphology and Embryology, 2007, Vol. 48 (4), PP. 449–454.

© Лазаренко Л. В., 2021

Информация об авторах

Лазаренко Людмила Викторовна, кандидат ветеринарных наук, кафедра зоотехнии Пермского института ФСИН России (РФ, 614012, Приволжский федеральный округ, г. Пермь, ул. Карпинского, 125), e-mail: lazarenko.mila2012@yandex.ru.

Information about authors

Ludmila V. Lazarenko, Candidate of Veterinary Sciences; Department of Animal Science; Perm Institute of the Federal Penitentiary Service; 125, Karpinskogo str., Perm, Russia; 614012; e-mail: lazarenko.mila2012@yandex.