

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРФЕРОНА ЛЯМБДА НА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА, ИНДУЦИРОВАННОГО МИТОМИЦИНОМ С

Востроилова Г.А., д-р.биол.наук, orcid.org/0000-0002-2960-038X

Хохлова Н.А., канд.ветеринар.наук., orcid.org/0000-0001-6861-2554

Шабанов Д.И. orcid.org/0000-0002-1574-1317

Корчагина А.А., канд.ветеринар.наук, orcid.org/0000-0002-8561-417X

Морозова Д.Д. orcid.org/0000-0002-3135-58-11

Некрасов А.В. orcid.org/0000-0002-5957-1583

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Россия

РЕФЕРАТ

Данное исследование было направлено на изучение влияния рекомбинантного интерферона лямбда (ИФН-λ), видоспецифичного для крупного рогатого скота, на генерацию активных форм кислорода (АФК) в клетках печени и костного мозга мышей в условиях индуцированного митомицином С оксидативного стресса. В эксперименте были использованы самки белых лабораторных мышей, из которых были сформированы четыре группы по 6 животных в каждой: группа негативного контроля (группа I); группа мышей, получавших трехкратную инъекцию ИФН-λ в дозе 0,1 мл/кг (группа II) и мыши, которым помимо ИФН-λ вводили цитотоксический препарат, индуцирующий процессы свободнорадикального окисления, – митомицин С в дозе 10 мг/кг (группа III), а также животные, получавшие только митомицин С (группа IV). Нами была изучена концентрация и жизнеспособность клеточной суспензии, полученной из печени мышей, а также относительное содержание внутриклеточных АФК в клетках печени и костного мозга животных, оцениваемое по интенсивности флуоресценции окисленной формы 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеиндиацетата. Концентрация и жизнеспособность клеток в суспензии печени здоровых мышей не изменялась при введении ИФН-λ (группа II), что свидетельствует об отсутствии токсического эффекта ИФН-λ на данные клетки. Выявлено увеличение уровня АФК в исследуемых клетках при введении ИФН-λ мышам группы II (повышение уровня АФК в 1,3 раза в клетках печени и в 2,9 раза в клетках костного мозга относительно мышей группы I) и снижение содержания АФК у мышей в условиях окислительного стресса индуцированного митомицином С (снижение содержания внутриклеточных АФК в 1,9 и 7,2 раза в клетках печени и костного мозга у животных группы III относительно мышей группы IV). Представленные изменения могут выступать свидетельством нормализации ИФН-λ окислительно-восстановительного баланса в организме и, вероятно, проявляться в связи с иммуномодулирующей активностью ИФН-λ.

Ключевые слова: активные формы кислорода, интерферон лямбда, митомицин С, оксидативный стресс, лабораторные мыши.

ВВЕДЕНИЕ

Научно доказано, что, как в физиологических условиях, так и при воздействии различных стрессоров и патогенов, активные формы кислорода (АФК) играют весомую роль в регуляции основных функций клетки. Роль АФК при этом может быть двойственной: в зависимости от силы воздействия патогенного фактора активные формы кислорода могут выступать либо индукторами адаптационных процессов в клетках, либо запускать процесс клеточной гибели [1].

Свои физиологические и патологические эффекты АФК реализуют в тесном взаимодействии с другими регуляторными факторами клетки, модулируя их активность. Кроме того, АФК способны оказывать прямое деструктивное действие на клеточные структуры, а также инициировать свободнорадикальное окисление (СРО) липидов, белков, нуклеиновых кислот, что лежит в основе патогенеза многих заболеваний [2, 3].

АФК играют значимую роль и в функциониро-

вании иммунной системы [4]. Активные формы кислорода митохондриального происхождения выполняют роль мессенджеров, активируя основной пул иммунокомпетентных клеток, выработку провоспалительных цитокинов, регулируя реакции адаптивного иммунитета (в частности, функции Т-лимфоцитов), влияют на течение воспалительной реакции [5, 6]. Нарушение процессов СРО и избыточное производство АФК может играть одну из ведущих ролей в этиопатогенезе многих нарушений иммунологической защиты организма [7].

Митомицин С (ММС) является известным препаратом с противоопухолевой, цитотоксической и цитостатической активностью [8]. Препарат действует по двум механизмам: путем биовосстановительного алкилирования нуклеиновых кислот с образованием сшивок ДНК и путем генерации свободных радикалов, таких как супероксид и гидроксильные радикалы, после метаболической активации препарата в печени [9]. Также среди побочных эффектов ММС выделяют угнетение костного мозга [10]. Поэтому

митомидин С может быть использован в качестве экспериментального токсиканта, индуцирующего процессы СРО в организме [11].

Интерферон лямбда (ИФН-λ) является интерфероном типа III, который осуществляет ряд иммунных и регуляторных функций в организме [12, 13]. Однако его роль в генерации АФК и СРО в организме изучена далеко не полностью.

Поэтому целью нашей работы явилось изучение влияния рекомбинантного ИФН-λ на генерацию АФК в клетках печени и костного мозга мышей в условиях ММС-индуцированного окислительного стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа была проведена в условиях лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем ФГБНУ «ВНИИПФиТ» в соответствии с требованиями действующих международных и российских законодательных актов. Дизайн эксперимента предварительно был одобрен Комиссией по биоэтике института. Исследуемым объектом служил препарат производства ООО «НПЦ «ПроБиоТех», Республика Беларусь, в 1 мл которого содержится видоспецифичный для крупного рогатого скота рекомбинантный интерферон лямбда с активностью не менее 10000 МЕ.

Для моделирования окислительного стресса использовали препарат Митомидин С Киова (Киова Хакко Когиро Ко., Япония), содержащий в качестве действующего вещества митомидин.

В соответствии с дизайном эксперимента (таблица 1) были сформированы 4 группы самок белых лабораторных мышей массой тела $28,0 \pm 10\%$ г по $n=6$ в каждой. На четвертые сутки после начала эксперимента мышей всех групп выводили из эксперимента передозировкой углекислого газа. Во время аутопсии проводили отбор проб тканей печени и костного мозга мышей.

Для получения суспензии клеток печени часть тканей массой $200,0 \pm 5,0$ мг гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе на льду в 2 мл буферного раствора Хенкса (рН 7,4). Далее клетки дважды отмывали с помощью центрифуги ELMi CM-50 (ELMI, Латвия) при 1000 об./мин. по 10 мин. Осадок ресуспендировали в буферном растворе Хенкса. Суспензию клеток костного мозга получали после вымывания костного мозга из бедренных костей мышей 2,5 мл раствора Хенкса [14].

Общую концентрацию клеток и их жизнеспособность определяли в камере Горяева методом

экслюзии красителя трипанового синего (0,23%) [15]. Исследование проводили с помощью микроскопа Биоскоп-1 (ЛОМО, Россия) при увеличении $\times 100$.

Содержание внутриклеточных АФК определяли по регистрации интенсивности флуоресценции DCF (окисленной формы DCFH-DA (2',7'-дихлордигидрофлуоресцеиндиацетат)) методом флуоресцентной спектрофотометрии на спектрофлуориметре RF-1501PC (Shimadzu, Япония). Для этого к суспензиям клеток добавляли DCFH-DA (Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 10 мкмоль/л и инкубировали без доступа света в течение 30 мин при 37 °С, затем дважды отмывали клетки от непоглощенного флуоресцентного зонда путем центрифугирования (10 мин; 1000 об./мин.) и определяли интенсивность флуоресценции образцов с помощью спектрофлуориметра (длина волны возбуждения – 488 нм, испускания – 520 нм) при концентрации клеток во всех образцах равной 106 кл/мл [16].

У-тест Майна-Уитни применяли для сравнения исследуемых показателей между группами животных, с помощью программы STATISTICA 10 (Statsoft, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами были изучены изменения в концентрации и жизнеспособности суспензии клеток печени мышей исследуемых групп. Концентрация клеток печени у мышей группы I составляла $22,72 \pm 1,03 \cdot 10^6$ кл/мл. Введение ИФН-λ (группа II) не приводило к значимому изменению концентрации клеток ($20,90 \pm 1,19 \cdot 10^6$ кл/мл). При этом введение митомидина С совместно с ИФН-λ (группа III) и в монорежиме (IV) вызывало значимое снижение концентрации клеток на 27,07 и 36,31%, соответственно, относительно группы контроля (рис. 1А).

Введение ИФН-λ не вызывало значимого снижения доли жизнеспособных клеток ($80,0 \pm 4,23\%$ в группе II) относительно этого показателя у мышей из группы негативного контроля ($73,18 \pm 4,17\%$). Не вызывало также снижения жизнеспособности клеток и введение ИФН-λ совместно с митомидином С ($65,33 \pm 3,72\%$). При этом отдельное введение митомидина С приводило к значимому снижению жизнеспособности клеток на 13,42% относительно показателя группы I (рис. 1Б).

Представленные данные свидетельствуют о токсическом и цитостатическом эффекте митомидина С, который проявляется в снижении кон-

Таблица 1.

Дизайн эксперимента

Группы животных	Препараты и условия их применения
I	0,9% хлорид натрия в объеме 0,1 мл трехкратно внутримышечно с интервалом 24 ч и однократно внутривенно в объеме 0,5 мл ($n=6$).
II	Препарат рекомбинантного интерферона-λ в дозе 0,1 мл/кг в объеме 0,1 мл трехкратно внутримышечно с интервалом 24 ч ($n=6$).
III	Препарат рекомбинантного интерферона-λ в дозе 0,1 мл/кг в объеме 0,1 мл трехкратно внутримышечно с интервалом 24 ч и совместно с последней инъекцией однократно внутривенно митомидин С в дозе 10 мг/кг в объеме 0,5 мл ($n=6$).
IV	однократно внутривенно митомидин С в дозе 10 мг/кг в объеме 0,5 мл ($n=6$).

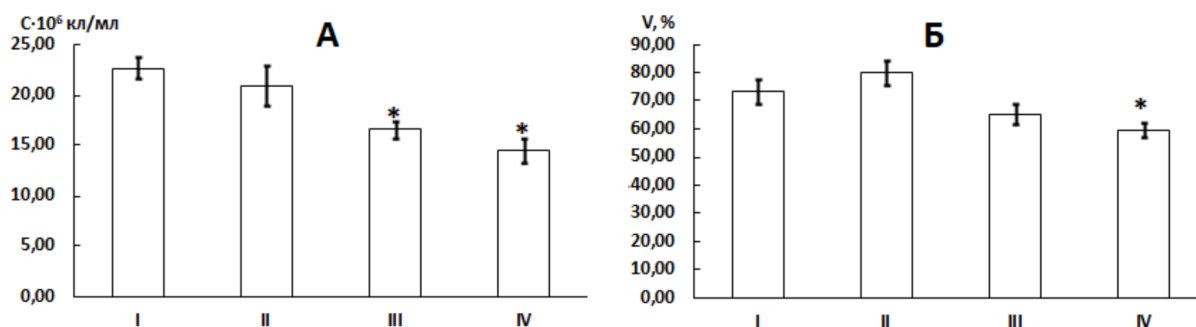


Рисунок 1. Концентрация (А) и жизнеспособность (Б) клеток печени мышей, исследуемых групп: С·106 - концентрация клеток, кл/мл; V – жизнеспособность, %; I-IV – исследуемые группы (пояснения в тексте); * - статистически значимые отличия от группы I (при $p < 0,05$).

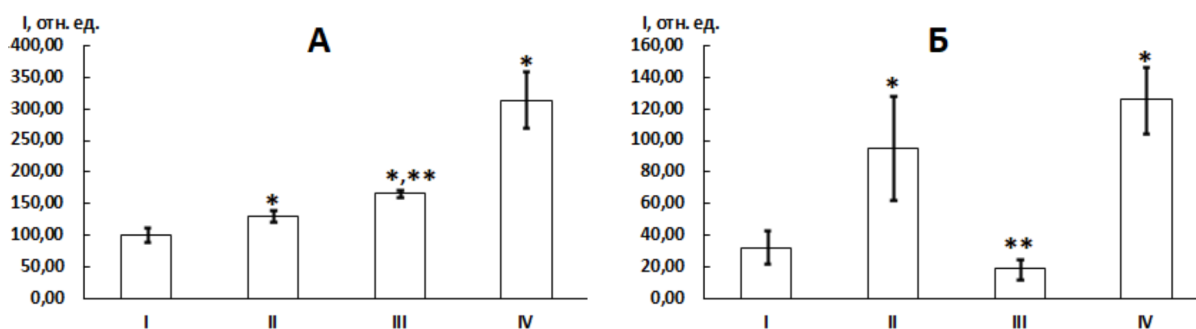


Рисунок 2. Содержание внутриклеточных АФК в клетках печени (А) и костного мозга (Б) мышей: I – интенсивность флуоресценции DCF, отн. ед.; I-IV – исследуемые группы (пояснения в тексте); * - статистически значимые отличия от группы I (при $p < 0,05$); ** - статистически значимые отличия от группы IV (при $p < 0,005$).

центрации и жизнеспособности клеток печени. Вместе с тем применение ИФН-λ, хотя и не приводило к увеличению концентрации клеток в суспензии у мышей группы III, но вызывало меньшее снижение жизнеспособности клеток в суспензии, поскольку значимо не отличалась от жизнеспособности клеток группы контроля.

Помимо этого нами был определен уровень внутриклеточных АФК в клетках костного мозга и печени мышей исследуемых групп (рис. 2 А, Б).

В клетках печени и костного мозга здоровых мышей интенсивность флуоресценции DCF находилась на уровне $100,25 \pm 11,02$ и $32,45 \pm 10,46$ отн. ед. соответственно. Введение ИФН-λ мышам приводило к статистически значимому накоплению внутриклеточных АФК, как в клетках печени, так и в клетках костного мозга. Так введение ИФН-λ мышам в дозе 0,1 мл/кг сопровождалось увеличением интенсивности свечения DCF в 1,3 раза в клетках печени и в 2,9 раза в клетках костного мозга относительно мышей группы I ($130 \pm 9,17$ и $95,12 \pm 32,87$ отн. ед. соответственно). Введение митомицина С в дозе 10 мг/кг индуцировало процессы свободнорадикального окисления в организме мышей, что выражалось в значимом увеличении интенсивности флуоресценции DCF у мышей группы IV ($314,01 \pm 44,21$ и $125,67 \pm 17,34$ отн. ед. в клетках печени и костного мозга соответственно). Таким образом, уровень внутриклеточных АФК повышался в 3,1 и 3,9 раза в клетках печени и костного мозга соответственно относительно показателей мышей

группы I. При этом введение ИФН-λ совместно с ММС, индуцировало снижение содержания внутриклеточных АФК в 1,9 и 7,2 раза относительно мышей группы IV. Интенсивность флуоресценции DCF в клетках печени мышей группы III составляла $166,75 \pm 5,19$ отн. ед., а в клетках костного мозга $18,58 \pm 6,25$ отн. ед. При этом уровень внутриклеточных АФК в клетках костного мозга снижался до значений контрольной группы (группы I). Таким образом, ИФН-λ индуцировал снижение уровня внутриклеточных АФК в клетках печени и костного мозга в условиях ММС-индуцированного свободнорадикального стресса и стимулировал накопление АФК в данных клетках у здоровых мышей.

Существуют исследования, где показано накопление внутриклеточных АФК кератиноцитами под действием ИФН-λ. При этом авторы данной публикации полагают, что этот процесс является компонентом реализации клетками антибактериальных функций, которая проявляется путем модуляции воспаления и ингибирования колонизации бактериальным патогеном через сигнальный путь IL-28R-АФК-JAK-STAT1 [17]. Представленные данные соответствуют нашим исследованиям, которые показывают увеличение уровня АФК в клетках печени и костного мозга здоровых мышей под действием ИФН-λ. Известно, что рецепторы к ИФН-λ находятся преимущественно в клетках эпителиального происхождения и, в частности, в иммунных клетках костного мозга [13]. Это может быть причиной более

интенсивной реакции клеток костного мозга на воздействие ИФН-λ у мышей из групп II и III. Вместе с тем введение ИФН-λ совместно с ММС приводило к обратным результатам. Известно, что в условиях острого воспаления ИФН-λ проявляет противовоспалительное и тканезащитное действие, снижая генерацию АФК такими иммунокомпетентными клетками как нейтрофилы [18]. В тоже время вызванный ММС окислительный стресс может приводить к активации воспалительных процессов в организме [19]. Одним из механизмов противовоспалительного действия является снижение генерации АФК в клетках [20, 21]. Поэтому вызванное ИФН-λ снижение генерации АФК в клетках печени и костного мозга мышей в условиях ММС-индуцированного оксидативного стресса, вероятно, может происходить в результате реализации ИФН-λ своих противовоспалительных и тканезащитных свойств. Действительно, различные физиологические эффекты ИФН-λ могут проявляться в зависимости от условий микроокружения или природы патологического процесса [13]. Поэтому, выявленная нами, стимуляция генерации АФК в клетках печени и костного мозга у здоровых мышей и снижение уровня АФК в этих клетках у мышей в условиях токсического и окислительного стресса могут являться результатом иммуномодулирующего действия ИФН-λ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проделанной работы нами было выявлено влияние ИФН-λ на уровень АФК в клетках печени и костного мозга мышей при свободнорадикальном и токсическом стрессе, индуцированном высокой дозой митомидина С. Введение ИФН-λ здоровым мышам не приводило к снижению концентрации и жизнеспособности клеток печени, что может быть свидетельством отсутствия у него токсического действия. Кроме того нами выявлено увеличение уровня АФК в исследуемых клетках при введении ИФН-λ у здоровых животных и снижение содержания АФК у мышей в условиях окислительного стресса индуцированного митомидином С. Представленные изменения могут выступать свидетельством нормализации ИФН-λ окислительно-восстановительного баланса в организме и, вероятно, проявляться в связи с иммуномодулирующей активностью ИФН-λ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки. Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2015. №2. С. 13-22.
2. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Митохондриальные мишени для фармакологической регуляции адаптации клетки к воздействию гипоксии. Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. 2014. Т.12, №2. С. 28-35.
3. Lukyanova L.D., Sukoyan G.V., Kirova Y.I. Role of proinflammatory factors, nitric oxide, and some parameters of lipid metabolism in the development of immediate adaptation to hypoxia and HIF-1α accumulation. Bull. Exp. Biol. Med. 2013. V.154, N5. P. 597-601.
4. Пинегин Б.В., Воробьева Н.В., Пашенков М.В., Черняк Б.В. Роль митохондриальных активных форм кислорода в активации врожденного иммунитета. Иммунология. 2018. №39(4). 221-229. DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-4-221-229.
5. Rashida Gnanaprakasam J.N., Wu R., Wang R. Metabolic reprogramming in modulating t cell reactive oxygen species generation and antioxidant capacity. Front. Immunol. 2018. Vol. 16, № 9. P. 1075. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01075.
6. Shekhova E. Mitochondrial reactive oxygen species as major effectors of antimicrobial immunity. PLoS Pathog.. 2020. Vol. 16, № 5. P. 1008470. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008470.
7. Скупневский С.В., Пухаева Е.Г., Бадтиев А.К., Руря Ф.К., Батагова Ф.Э., Фарниева Ж.Г. Особенности развития аутоиммунной патологии в условиях митохондриальной дисфункции у крыс. Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 1. С. 161–166. DOI: 10.15789/2220-7619-TFO-2038
8. Murayama, T., Takahashi, N., Ikoma, N. Cytotoxicity and characteristics of mitomycin C. Ophthalmic Res. 1996. №28(3). Pp. 153-159. DOI: 10.1159/000267896.
9. Sinitsky, M.Yu., Kutikhin, A.G., Tsepokina, A.V., Shishkova, D.K., Asanov, M.A., Yuzhalin, A.E., Minina, V.I., Ponasenko, A.V. Mitomycin C induced genotoxic stress in endothelial cells is associated with differential expression of proinflammatory cytokines. Mutat Res. 2020. №858-860. P.503252. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2020.503252.
10. Kumari, S., Naik, P., Vishma, B.L., Salian, S.R., Devkar, R.A., Khan, S., Mutalik, S., Kalthur, G., Adiga, S.K. Mitigating effect of Indian propolis against mitomycin C induced bone marrow toxicity. Cytotechnology. 2016. №68 (5). pp. 1789-17800. DOI: 10.1007/s10616-015-9931-4.
11. Premkumar K., Abraham S.K., Santhiya S.T., Ramesh A. Protective effects of saffron (*Crocus sativus* Linn.) on genotoxins-induced oxidative stress in Swiss albino mice. Phytother Res. 2003. №17(6). Pp. 614-617. DOI: 10.1002/ptr.1209. PMID: 12820227.
12. Хохлова Н.А., Востроилова Г. А., Корчагина А. А., Жуков М.С., Шабанов Д.И., Некрасов А.В. Токсикологическое исследование препарата интерферона лямбда при его многократном введении белым крысам. Ветеринарный фармакологический вестник. 2023. № 1(22). С. 31-46. DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.1.31
13. Broggi A, Granucci F, Zanoni I. Type III interferons: Balancing tissue tolerance and resistance to pathogen invasion. Journal of Experimental Medicine. 2020 №217 (1): e20190295. DOI: 10.1084/jem.20190295.
14. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
15. Strober W., Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. Current Protocols in Immunology. 1997. Chapter 21. A.3B.1-A.3B.2. DOI: 10.1002/0471142735.ima03bs21.
16. Eruslanov E., Kusmartsev S. Identification of ROS using oxidized DCFDA and flow-cytometry.

Methods Mol. Biol. 2010. Vol. 594, pp. 57-72.

17. Wu X., Zhao Y., Gu Y., Li K., Wang X., Zhang J. Interferon-Lambda 1 Inhibits Staphylococcus aureus Colonization in Human Primary Keratinocytes. Front. Pharmacol. 2021. №12. e652302. DOI: 10.3389/fphar.2021.652302.

18. Andreaskos E., Zanon I., Galani I.E., Lambda interferons come to light: dual function cytokines mediating antiviral immunity and damage control. Current Opinion in Immunology. 2019. Vol. 56. pp. 67-75. DOI: 10.1016/j.coi.2018.10.007.

19. McGarry T., Biniecka M., Veale D.J., Fearon U.

Hypoxia, oxidative stress and inflammation. Free Radic Biol Med. 2018. №125. Pp. 15-24. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042.

20. Baek S.-H., Park, T., Kang M.-G., Park D. Anti-Inflammatory activity and ROS regulation effect of sinapaldehyde in LPS-Stimulated RAW 264.7 Macrophages. Molecules. 2020. № 25. P.4089. DOI: 10.3390/molecules25184089.

21. Hamblin M.R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. AIMS Biophys. 2017. №4(3). Pp. 337-361. DOI: 10.3934/biophy.2017.3.337.

EFFECT OF INTERFERON LAMBDA ON THE GENERATION OF ACTIVE OXYGEN SPECIES IN MICE CELLS UNDER CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS INDUCED BY MITOMYCIN C

G.A. Vostroilova, Dr.Habil. in Biological Sciences, orcid.org/0000-0002-2960-038X

N.A. Khokhlova, PhD of Veterinary Sciences, orcid.org/0000-0001-6861-2554

D.I. Shabanov, orcid.org/0000-0002-1574-1317

A.A. Korchagina, PhD of Veterinary Sciences, orcid.org/0000-0002-8561-417X

D.D. Morozova, orcid.org/0000-0002-3135-58-11

A.V. Nekrasov, orcid.org/0000-0002-5957-1583

All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Russia

This research was aimed at studying the effect of species-specific recombinant bovine interferon lambda (IFN-λ) on the generation of reactive oxygen species (ROS) in mouse liver and bone marrow cells under conditions of mitomycin C-induced oxidative stress. The experiment included female white laboratory mice. There were formed four groups of 6 animals each: the negative control group (group I); the group of mice that received a three-fold injection of IFN-λ at a dose of 0.1 ml/kg (group II) and mice that, in addition to IFN-λ, were administered a cytotoxic drug that induced free radical oxidation processes - mitomycin C at a dose of 10 mg/kg (group III), as well as the animals receiving only mitomycin C (group IV). We studied the concentration and viability of a cell suspension obtained from the liver of mice, as well as the relative content of intracellular ROS in the liver and bone marrow cells of animals, assessed by the fluorescence intensity of the oxidized form of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate. The concentration and viability of cells in the liver suspension of healthy mice did not change with the introduction of IFN-λ (group II), indicating the absence of a toxic effect of IFN-λ on these cells. An increase in the level of ROS in the studied cells was detected when IFN-λ was administered to mice of group II (an increase in the level of ROS by 1.3 times in liver cells and by 2.9 times in bone marrow cells, relative to the mice of group I) and a decrease in the level of ROS in the mice under conditions of oxidative stress induced by mitomycin C (reduction in the content of intracellular ROS by 1.9 and 7.2 times in liver and bone marrow cells in the animals of group III, relative to the mice of group IV). The presented changes may indicate the normalization of IFN-λ redox balance in the body and, probably, appear in connection with the immunomodulatory activity of IFN-λ.

Key words: reactive oxygen species, interferon lambda, mitomycin C, oxidative stress, laboratory mice.

REFERENCES

1. Pozhilova E.V., Novikov V.E., Levchenkova O.S. Reactive oxygen species in cell physiology and pathology. Bulletin of Smolensk State Medical Academy. 2015. No. 2. P. 13-22. [in Russ.]
2. Novikov V.E., Levchenkova O.S. Mitochondrial targets for pharmacological regulation of cell adaptation to hypoxia. Reviews on clinical pharmacology and med. therapy. 2014. V.12, No. 2. P. 28-35. [in Russ.]
3. Lukyanova L.D., Sukoyan G.V., Kirova Y.I. Role of proinflammatory factors, nitric oxide, and some parameters of lipid metabolism in the development of immediate adaptation to hypoxia and HIF-1α accumulation. Bull. Exp. Biol. Med. 2013. V.154, N5. P. 597-601.
4. Pinegin B.V., Vorobyeva N.V., Pashchenkov M.V., Chernyak B.V. Role of mitochondrial reactive oxygen species in the activation of innate immunity. Immunology. 2018. No. 39(4). 221-229. DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-4-221-229 [in Russ.]
5. Rashida Gnanaprakasam J.N., Wu R., Wang R. Metabolic reprogramming in modulating t cell reactive oxygen species generation and antioxidant capacity. Front. Immunol. 2018. Vol. 16, No. 9. R. 1075. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01075.
6. Shekhova E. Mitochondrial reactive oxygen species as major effectors of antimicrobial immunity. PLoS Pathog. 2020. Vol. 16, No. 5. R. 1008470. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008470.
7. Skupnevskiy S.V., Pukhaeva E.G., Badtiev A.K., Rurua

- F.K., Batagova F.E., Farnieva Zh.G. Features of the development of autoimmune pathology in conditions of mitochondrial dysfunction in rats. Infection and immunity. 2023. V. 13, No. 1. P. 161-166. DOI: 10.15789/2220-7619-TFO-2038 [in Russ.]
8. Murayama, T., Takahashi, N., Ikoma, N. Cytotoxicity and characteristics of mitomycin C. Ophthalmic Res. 1996. No. 28(3). Pp. 153-159. DOI: 10.1159/000267896.
9. Sinitsky, M.Yu., Kutikhin, A.G., Tsepokina, A.V., Shishkova, D.K., Asanov, M.A., Yuzhalin, A.E., Minina, V.I., Ponasenko, A.V. Mitomycin C induced genotoxic stress in endothelial cells is associated with differential expression of proinflammatory cytokines. Mutat Res. 2020. No. 858-860. P.503252. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2020.503252.
10. Kumari, S., Naik, P., Vishma, B.L., Salian, S.R., Devkar, R.A., Khan, S., Mutalik, S., Kalthur, G., Adiga, S.K. Mitigating effect of Indian propolis against mitomycin C induced bone marrow toxicity. Cytotechnology. 2016. No. 68 (5). pp. 1789-17800. DOI: 10.1007/s10616-015-9931-4.
11. Premkumar K., Abraham S.K., Santhiya S.T., Ramesh A. Protective effects of saffron (Crocus sativus Linn.) on genotoxins-induced oxidative stress in Swiss albino mice. Phytother Res. 2003. No. 17(6). Pp. 614-617. DOI: 10.1002/ptr.1209. PMID: 12820227.
12. Khokhlova N.A., Vostroilova G.A., Korchagina A.A., Zhukov M.S., Shabanov D.I., Nekrasov A.V. Toxicological study of the interferon lambda preparation at its multiple administration to white rats. Bulletin of Veterinary

Pharmacology. 2023. No. 1(22). P. 31-46. DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.1.31 [in Russ.]

13. Broggi A, Granucci F, Zanoni I. Type III interferons: Balancing tissue tolerance and resistance to pathogen invasion. *Journal of Experimental Medicine*. 2020 No. 217 (1): e20190295. DOI: 10.1084/jem.20190295.

14. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Ed. by A. N. Mironov. M.: Grif i K, 2012. 944 p. [in Russ.]

15. Strober W., Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Current Protocols in Immunology*. 1997. Chapter 21. A.3B.1-A.3B.2. DOI: 10.1002/0471142735.ima03bs21.

16. Eruslanov E., Kusmartsev S. Identification of ROS using oxidized DCFDA and flow-cytometry. *Methods Mol. Biol.* 2010. Vol. 594, pp. 57-72.

17. Wu X., Zhao Y., Gu Y., Li K., Wang X., Zhang J. Interferon-Lambda 1 Inhibits Staphylococcus aureus Colonization in Human Primary Keratinocytes. *Front. Pharmacol.* 2021. №12. e652302. DOI: 10.3389/

fphar.2021.652302.

18. Andreaskos E., Zanoni I., Galani I.E., Lambda interferons come to light: dual function cytokines mediating antiviral immunity and damage control. *Current Opinion in Immunology*. 2019. Vol. 56. pp. 67-75. DOI: 10.1016/j.coi.2018.10.007.

19. McGarry T., Biniecka M., Veale D.J., Fearon U. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic Biol Med.* 2018. No. 125. Pp. 15-24. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042.

20. Baek S.-H., Park, T., Kang M.-G., Park D. Anti-Inflammatory activity and ROS regulation effect of sinapaldehyde in LPS-Stimulated RAW 264.7 Macrophages. *Molecules*. 2020. No. 25. P.4089. DOI: 10.3390/molecules25184089.

21. Hamblin M.R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys.* 2017. No. 4(3). Pp. 337-361. DOI: 10.3934/biophy.2017.3.337.

УДК 577.1:612.1:616.36-002:619

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2023.4.194

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Крячко Оксана Васильевна, д-р. ветеринар. наук, проф., orcid.org/0000-0002-8996-8522

Лукоянова Любовь Александровна, канд. ветеринар. наук, доц., orcid.org/0000-0003-4785-9632

Анисимова Ксения Алексеевна, канд. ветеринар. наук, orcid.org/0000-0001-7966-9687

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

В ветеринарной практике достаточно часто встречаются гепатопатии у животных, возникновению которых предшествуют либо аутоиммунные повреждения аутоантигенами, либо прямое повреждение печени разными этиологическими факторами. Такими факторами могут выступать лекарственные препараты при лечении и профилактике различных инвазионных заболеваний, при ошибочной дозировке или при индивидуальной реакции животного.

Цель работы – в модельном опыте изучить влияние токсического препарата (тетрахлорметан) на функциональную активность гепатоцитов у крыс.

В работе показано, что токсическое действие тетрахлорметана проявляется ярко выраженной клинической картиной поражения печени и изменением активности трансаминаз. Изменения имеют каскадный характер - при первом контакте токсиканта с гепатоцитами происходит повреждение мембраны клеток и активация АлАТ, в дальнейшем наблюдается повышение активности АсАТ и ЩФ, свидетельствующий о системных нарушениях, сначала печени, а затем сердечной мышцы.

Ключевые слова: печень, гепатит, ферменты гепатоцитов, моделирование, токсическое поражение.

ВВЕДЕНИЕ

Плазменные ферменты крови, такие как АлАТ (аланинаминотрансфераза), АсАТ (аспартатаминотрансфераза), щелочная фосфатаза (ЩФ), являются органоспецифическими ферментами гепатоцитов и освобождаются при незначительном или полном повреждении клеток (2). Существует большое количество путей токсического воздействия, что связано с разнообразием потенциальных токсикантов, а также множеством структур и функций, которые они нарушают (6). Патогенез токсического проявления состоит из нескольких этапов. Сначала токсическое вещество достигает цели и действует с эндогенными молекулами-мишенями, тем самым вызывая функциональную активность клеток, которые в свою очередь запускают репаративные механизмы на молекулярном, клеточном или тканевом уровнях. Если же действие токсического вещества превышает регенераторные способ-

ности, клетки подвергаются дистрофическим изменениям (8). В роли токсического повреждения органов большое значение играет вид токсиканта, доза его действия и продолжительность. Широкий спектр токсических веществ позволяет произвести моделирование острого токсического поражения печени (3, 4, 5, 6). Нами была выбрана модель для воспроизведения с применением тетрахлорметана (CCl₄), который быстро приводит к поражению органа и широко распространен в ветеринарной практике. (1)

Цель работы – в модельном опыте изучить влияние токсического препарата (тетрахлорметан) на функциональную активность гепатоцитов у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ на 24 лабораторных крысах породы Wistar, которые были разделены на опытную и контрольную (интактную) группы по 12 особей, по принципу