

УДК 616.36-002-092.9

Инфильтрация печени клетками иннатного и адаптивного иммунитета и их гибель в динамике экспериментального иммунного конканавалин-А-индуцированного гепатита

С.И. Павлович, Т.М. Брызгина, Н.В. Макогон, Л.И. Алексюк,
Т.В. Мартынова, Р.И. Янчий, И.Н. Алексеева

(Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев)

Infiltration of the liver by cells of innate and adaptive immunity and their destruction in development of experimental immune concanavalin-A-induced hepatitis

S.I. Pavlovich, T.M. Bryzgina, N.V. Makogon, L.I. Aleksyuk, T.V. Martynova,
R.I. Yanchy, I.N. Alekseyeva

Цель исследования. Изучить повреждение ткани печени, ее инфильтрацию клетками иннатного и адаптивного иммунитета и их гибель в динамике конканавалин-А (КонА)-индуцированного гепатита у мышей.

Материал и методы. Использовали гистологические, цитологические и биохимические методы. Исследовали активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови, активность миелопероксидазы в ткани печени, клеточную гибель методом двойной прижизненной окраски, степень повреждения микроциркуляторного русла и паренхимы печени, диффузную и очаговую инфильтрацию и клеточный состав инфильтратов.

Aim of investigation. To study damage of liver tissue, its infiltration by cells of innate and adaptive immunity and cell death in the development of *concanavalin* (ConA)-induced hepatitis in mice.

Material and methods. Histological, cytologic and biochemical methods were applied. Activity of alanine transaminase in blood serum, activity of myeloperoxidase in liver tissue, cell death by double vital staining, damage rate of microcirculation channel and parenchyma of the liver, diffuse and focal infiltration and cellular composition of infiltrates were investigated.

Results. Primary reaction of the liver at injection ConA consist in inflammatory changes in vascular bed followed by parenchymal disorders. Infiltration by leu-

Павлович Светлана Ивановна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины. Контактная информация для переписки: spavl@biph.kiev.ua; 01024, Киев-24, ул. Богомольца, 4, Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, отдел иммунологии и цитотоксических сывороток

Брызгина Татьяна Михайловна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

Макогон Наталья Владимировна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

Алексюк Людмила Ивановна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

Мартынова Татьяна Васильевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

Янчий Роман Иванович – доктор биологических наук, заведующий отделом иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

Результаты. Первичная реакция печени на введение КонА заключалась в изменениях воспалительного характера в сосудистом русле, за которыми следовали нарушения в паренхиме. Увеличивалась инфильтрация лейкоцитов в печень, причем вначале существенно возрастала нейтрофильная, а затем – лимфоцитарная. В ранние сроки после введения КонА усиливалась гибель клеток тимуса преимущественно по апоптотическому, а клеток селезенки – по некротическому пути.

Выводы. Полученные данные дают основание предполагать, что инфильтрация печени лейкоцитами, в особенности нейтрофилами, в сочетании с возрастанием некротической гибели периферических клеток иннатного и адаптивного иммунитета может быть существенным патогенетическим механизмом при воспалительных заболеваниях печени Т-клеточного генеза.

Ключевые слова: экспериментальный иммунный гепатит, конканавалин-А, воспалительная инфильтрация, некроз, апоптоз.

Экспериментальная модель *конканавалин-А* (КонА)-индуцированного острого гепатита используется для изучения повреждения печени, опосредованного иммунными механизмами. КонА-гепатит воспроизводит ряд характерных черт заболеваний печени человека (аутоиммунных и вирусных гепатитов, а также антиген-независимых поражений печени, включая алкогольное поражение, неалкогольный стеатогепатит, повреждение при ишемии-реперфузии). В частности, это касается клеток, которые участвуют в инициации и усилении воспаления: CD4+ Т-лимфоциты, *естественные киллеры Т-клетки* (ЕКТ), клетки Купфера, эндотелиальные клетки, нейтрофильные гранулоциты [5, 15, 17, 18].

Поликлональный Т-клеточный стимулятор митоген КонА вызывает повреждение печени мышей вследствие развития воспалительных реакций, связанных с активацией Т-клеток, в том числе печеночных ЕКТ-лимфоцитов [15–17]. G. Tiegs и соавт. полагают, что важнейшим звеном при КонА-гепатите является взаимодействие между Т-хелперами и макрофагами [16]. Инфильтрация печени воспалительными клетками вносит вклад в ее повреждение либо в качестве первопричины (как при аутоиммунном гепатите и первичном билиарном циррозе), либо как вторичный ответ на другие процессы (как при хронической вирусной инфекции).

Признано, что КонА-индуцированный иммунный гепатит у мышей является адекватной моделью для изучения роли и взаимодействия различных типов клеток в этиопатогенезе заболеваний печени, опосредованных активированными Т-клетками [8, 11, 12, 15]. Однако динамика воспалительной

infiltration of the liver was increased, initially essentially grew neutrophilic, and then - lymphocytic. In the early terms after ConA injection destruction of thymic cells was amplified mainly by apoptotic pathway, and spleen cells – by necrotic pathway.

Conclusions. Obtained data assume, that infiltration of the liver by leukocytes, in particular neutrophils, in combination to ascending necrotic destruction of peripheral cells of innate and adaptive immunity can be the essential pathogenic mechanism at inflammatory liver diseases of T-cell origin.

Key words: experimental immune hepatitis, concanavalin, inflammatory infiltration, necrosis, apoptosis.

инфильтрации печени лейкоцитами при введении КонА изучена недостаточно, так же как и различные пути гибели этих клеток (апоптоз, некроз и др.). При некрозе лейкоцитов, инфильтрирующих участок воспаления, происходит разрушение их плазматической мембраны и высвобождение биологически активных и тканеповреждающих молекул, усиливающих воспаление и хемотаксис, что может представлять важный, самоусиливающийся механизм повреждения. При этом может запускаться иммунный ответ на скрытые ранее собственные внутриклеточные антигены [18].

Целью работы было изучить повреждение ткани печени, ее инфильтрацию клетками иннатного и адаптивного иммунитета и их гибель в динамике КонА-индуцированного иммунного гепатита у мышей.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на половозрелых самцах мышей линии СВА массой 18–22 г с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986).

Иммунное повреждение печени вызывали однократным внутривенным введением КонА («Sigma», USA) в дозе 25 мг/кг массы тела. Контрольным животным вводили физиологический раствор в соответствующем объеме. Исследования проводили с использованием 6–8 животных на группу через 2, 6, 12, 20 и 48 ч.

Активность *аланинаминотрансферазы* (АлАТ) в сыворотке крови определяли известными мето-

дами [3]. Для морфологического изучения кусочки печени (полученные от 5 животных в каждой группе) после фиксации 10% нейтральным формалином обрабатывали по общепринятой гистологической методике и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и подвергали светооптическому исследованию.

Морфологическую оценку гистологических изменений осуществляли по разработанному нами комплексу показателей, наиболее важных для характеристики развития иммунного воспаления в печени: 1) нарушение балочной структуры, 2) дистрофия гепатоцитов, 3) гибель гепатоцитов, 4) активация клеток Купфера. Патологические изменения микроциркуляторного русла оценивали по показателям: 1) расширение сосудов, 2) полнокровие сосудов, 3) нарушения сосудистых стенок, 4) периваскулярные отеки, 5) тромбообразование. Градацию морфологических изменений проводили по 4-балльной шкале: 0 – отсутствие изменений, 1 – незначительные, 2 – средней выраженности, 3 – выраженные. По данной шкале определяли раздельно сумму баллов состояния паренхимы и сосудов, а также общую сумму баллов изучаемых морфологических изменений.

При анализе воспалительной инфильтрации ткани печени исследовали: 1) диффузную инфильтрацию, подсчитывая количество лейкоцитов в 10 полях зрения, $\times 40$; 2) очаговую инфильтрацию, регистрируя количество инфильтратов (группы из трех и более клеток) в 10 полях зрения, $\times 20$; 3) клеточный состав – подсчитывали количество лимфоцитов, нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, плазмоцитов, макрофагов и моноцитов в 5 случайно выбранных инфильтратах ($\times 40$) и определяли процент каждого типа клеток.

Активность *миелопероксидазы* (МПО) в гомогенатах печени исследовали с применением 3,3–5,5-тетраметилбензидина (ТМБ, «Sigma», USA) в качестве субстрата [14]. Для измерения оптической плотности цветного продукта реакции использовали автоматический планшет-ридер EIA Multi-well plate Reader II («Sigma», USA). Активность МПО выражали в условных единицах

(УЕ, величина оптической плотности на грамм исходной ткани печени за минуту).

Клетки тимуса и селезенки получали стандартным методом механической диссоциации с последующим гемолизом эритроцитов. При окраске по Паппенгейму установлено, что около 90% клеток в полученной суспензии составляли лимфоциты. Апоптотическую и некротическую гибель свежеизолированных клеток изучали методом прижизненной двойной окраски флуоресцентными красителями нуклеиновых кислот Хёхст 33342 и йодид пропидиума [13].

При статистической обработке результатов применяли непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа – Н-критерий Крускала–Уоллеса. Далее с помощью критерия Данна проводили множественные сравнения с контрольной группой – использовали программу GraphPad Prism (version 5.01, GraphPad Software, San Diego California USA). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез – $p=0,05$. Данные представляли в виде медиан, в таблице – в виде Me (25p, 75p), где Me – медиана, 25p и 75p – 25-й и 75-й процентиля соответственно.

Результаты исследования и их обсуждение

Внутривенное введение мышам митогена КонА приводило к повреждению печени. Повышение уровня АлАТ в сыворотке крови через 6, 12 и 20 ч после инъекции свидетельствовало о нарушении целостности плазматической мембраны гепатоцитов. Через 48 ч статистически значимого повышения активности АлАТ не выявлялось. Данные суммарной оценки гистоструктуры печени представлены в таблице.

Установлено, что КонА вызывал постепенное нарастание патологических изменений с максимумом через 20 ч после введения, повреждение печени сохранялось до 48 ч. Однако анализ состояния паренхимы и сосудов в отдельности показал, что выраженные патологические изме-

Динамика КонА-индуцированного гепатита

Показатель	Контроль	Исследование спустя				
		2 ч	6 ч	12 ч	20 ч	48 ч
АлАТ, ммоль/л·ч	3,5 (2,5–4,3)	3,8 (3,7–4,2)	9,4*** (8,0–10,3)	11,3*** (10,6–11,8)	10,5*** (5,8–11,8)	5,5 4,5–7,8
Нарушение гистоструктуры печени, баллы	2,5 (1,5–3,7)	7,5 (7,5–9,7)	17,5 (14,2–18,5)	17,5 (15,3–18,7)	26,0*** (23,5–27,5)	19,5** (19,5–23,5)
Нейтрофилы, % в лейкограмме	18 (14–27)	28 (16–38)	24 (18–31)	42** (38–43)	56*** (48–62)	31 (25–46)
Активность МПО, УЕ	19 (10–21)	34 (23–56)	54* (40–62)	82*** (56–148)	73** (48–134)	75* (31–110)

Примечание. Данные представлены в виде Me (25p–75p). * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ по отношению к контролю.

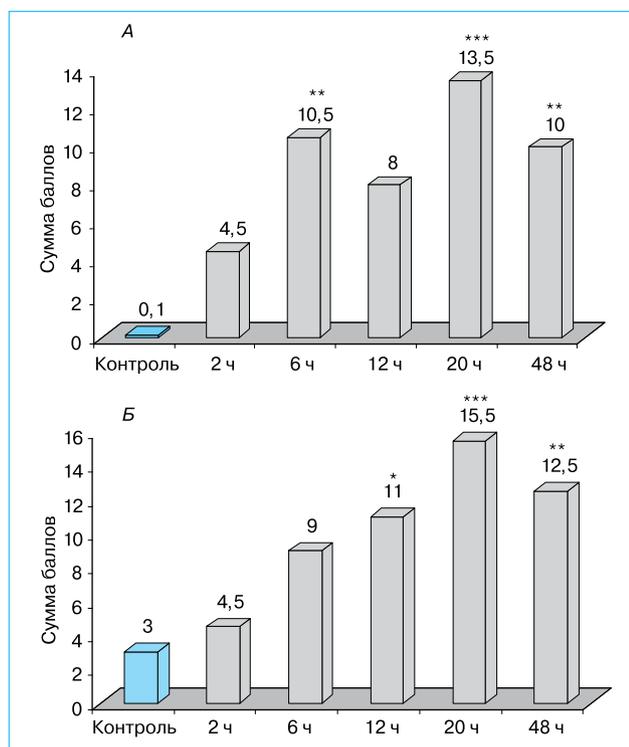


Рис. 1. Влияние КонА на состояние сосудистого русла (А) и паренхимы (Б) печени. По оси ординат – сумма баллов по следующим показателям: для сосудов – расширение сосудов, их полнокровие, нарушения сосудистых стенок, периваскулярные отеки, тромбообразование; для паренхимы – нарушение балочной структуры, дистрофия гепатоцитов, гибель гепатоцитов, активация клеток Купфера
* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем

нения в сосудистом русле предшествуют повреждению паренхимы и статистически значимы уже через 6 ч после введения КонА (рис. 1). Это проявлялось в расширении и полнокровии сосудов, периваскулярных отеках, изменениях сосудистой стенки, набухании и десквамации эндотелиоцитов и тромбообразовании. Первые статистически значимые морфологические изменения ткани печени прослеживались лишь через 12 ч (см. рис. 1) и касались гибели гепатоцитов и активации клеток Купфера.

Дистрофия гепатоцитов и нарушение балочной структуры печени были выраженными только через 20 ч после введения КонА и сохранялись до 48 ч. Изменения сосудистых стенок и микроциркуляции крови сопровождались повышенным проникновением лейкоцитов в ткань печени. Статистически значимое усиление диффузной инфильтрации выявлялось уже через 6 ч после инъекции (рис. 2А), что, вероятно, связано с усилением секреции хемокинов и увеличением экспрессии молекул адгезии на клетках микроциркуляторного русла. Так, было установлено [11], что ИФН- γ , выделяемый при активации

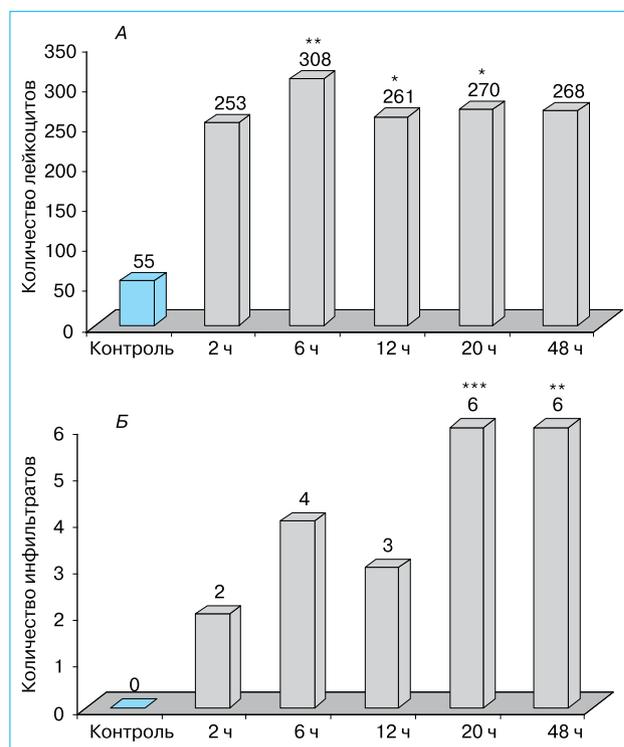


Рис. 2. Влияние КонА на инфильтрацию ткани печени: А – диффузную (количество лейкоцитов в 10 полях зрения, $\times 40$) и Б – очаговую (количество инфильтратов в 10 полях зрения, $\times 20$)
* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем

Т-клеток КонА, стимулирует синусоидальные эндотелиальные клетки, клетки Купфера и гепатоциты к продукции многочисленных хемокинов и адгезивных молекул, ответственных за развитие инфильтрации в печень лейкоцитов и обуславливающих, в конечном итоге, развитие гепатита. Очаговая инфильтрация нарастала в поздние сроки (рис. 2Б) и, очевидно, была связана с более выраженными повреждениями сосудистых стенок, что приводило к выходу большего количества клеточных элементов из крови в ткань.

Подсчет относительного количества различных типов клеток, инфильтрирующих печень, показал следующее. В контроле (при общем небольшом количестве лейкоцитов в ткани печени) в составе инфильтратов наблюдались преимущественно лимфоциты (67,4% от общего количества инфильтрирующих печень лейкоцитов) и в меньшем количестве – макрофаги (26,4%). Следует отметить, что уже в ранние сроки развития КонА-индуцированного гепатита (2–6 ч) происходило значительное усиление инфильтрации печени нейтрофильными гранулоцитами, за счет чего повышалось их относительное содержание в инфильтратах (рис. 3). В последующем этот показатель снижался, процент нейтрофилов через 20 и 48 ч был существенно ниже, чем через 6 ч ($p < 0,01$ в обоих случаях).

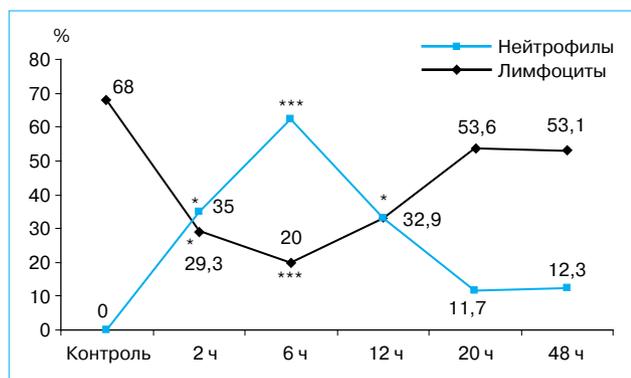


Рис. 3. Относительное количество нейтрофилов и лимфоцитов, инфильтрирующих печень в динамике Кона-индуцированного гепатита (% от общего количества клеток в инфильтратах)
* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем

Изменения лимфоцитарной инфильтрации происходили в противофазе по отношению к нейтрофильной, со значительным нарастанием относительного количества лимфоцитов в инфильтратах через 12, 20 и 48 ч (см. рис 3). Относительное количество моноцитов/макрофагов, инфильтрирующих печень, практически не изменялось. Эти результаты согласуются с данными С. Bondet и соавт. [8], которые выявили через 4 ч после введения Кона значительное увеличение числа лейкоцитов, адгезированных к постсинусоидальным венулам, и только малая часть из них (около 20%) была Т-лимфоцитами.

Активность маркерного фермента нейтрофильных гранулоцитов МПО отражает количество клеток иннатного иммунитета в органе и степень их активации. Изменения данного показателя также свидетельствуют о раннем усилении инфильтрации печени нейтрофилами: активность МПО увеличилась уже через 6 ч после введения Кона с дальнейшим возрастанием к 12-му часу и была также значимо выше по сравнению с контролем спустя 20 и 48 ч (см. таблицу). Хотя относительное количество нейтрофилов в инфильтратах снижалось к 20-му и 48-му часу за счет лимфоцитов, общее количество инфильтрирующих печень клеток (диффузная и очаговая инфильтрация) продолжало нарастать, что давало суммарное повышение активности МПО в ткани печени в эти сроки.

Выраженные патологические сдвиги в печени в ответ на введение Кона сопровождались изменениями лейкограммы крови, характерными для воспалительной реакции организма. Установлено возрастание относительного количества нейтрофильных гра-

нулоцитов в крови через 12 и 20 ч после инъекции Кона (см. таблицу).

Ранее рядом исследователей, в том числе нами, было показано, что введение Кона приводило к активации клеток иммунной системы и соответственно к их активационной гибели [1, 4, 10, 15]. Активированные лейкоциты могут гибнуть различными путями, включая некротический, приводя тем самым к усилению проявлений воспаления и созданию предпосылок для дальнейшего развития аутоиммунной реакции [18]. В данной работе было установлено, что неспецифический поликлональный активатор Т-клеток Кона существенно усиливал апоптоз в центральном органе иммунитета тимусе через 12–20 ч (рис. 4 А). Некроз тимоцитов возрастал в более поздние сроки (20–48 ч).

При исследовании клеток, выделенных из селезенки, выявлено заметное снижение их жизнеспособности и усиление клеточной гибели главным образом за счет интенсификации некроза (рис. 4 Б), что наблюдалось уже через 6 ч после введения Кона.

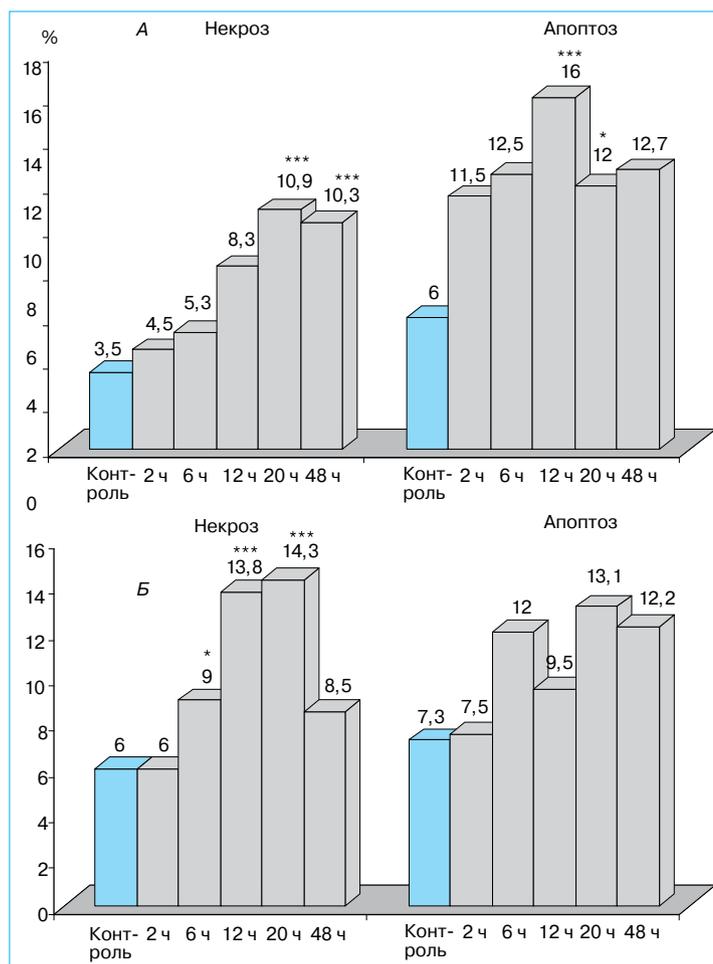


Рис. 4. Некротическая и апоптотическая гибель клеток (% мертвых клеток от их общего количества) в динамике Кона-индуцированного гепатита. А – свежевыделенные клетки тимуса, Б – клетки селезенки
* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем

Таким образом, обнаружены существенные отличия динамики гибели клеток первичного и вторичного иммунокомпетентных органов в ответ на инъекцию КонА. В тимусе в ранние сроки активировался апоптотический путь. Позже, уже на фоне развитого воспаления в организме, усиливался некроз тимоцитов. Вероятно, циркулирующие лейкоциты, клетки инфильтратов и вторичных иммунокомпетентных органов в большей степени подвержены действию провоспалительных и пронекротических факторов, выделяемых в поврежденном органе и крови. В наших опытах это касалось клеток селезенки, некроз которых усиливался в ранние сроки (6 ч), еще до наступления выраженных морфологических проявлений поражения печеночной паренхимы.

Итак, введение КонА мышам приводило к возникновению острого воспалительного процесса в печени. Гистологические исследования показали, что первыми при КонА-индуцированном гепатите наблюдались изменения воспалительного характера в сосудистом русле, за ними следовали изменения в паренхиме.

На фоне ранних сосудистых воспалительных проявлений в печени регистрировалось значительное увеличение количества клеток иннатного и адаптивного иммунитета. Инфильтрация ткани печени лейкоцитами — характерная морфологическая черта аутоиммунных заболеваний органа [8, 9, 18]. У больных алкогольным гепатитом, у которых иммунные механизмы являются важным этиологическим фактором, выявляют смешанные воспалительные инфильтраты, включающие нейтрофилы и лимфоциты [6]. Полагают, что, иммуноопосредованное повреждение поддерживается повторяющимися циклами непрерывного рекрутирования, удержания, выживания и гибели эффекторных лейкоцитов внутри воспаленной печени [9].

В исследованиях последних лет получены противоречивые результаты, касающиеся роли нейтрофилов при остром КонА-индуцированном гепатите. Так, установлено [8], что в течение нескольких часов после инъекции КонА в печени увеличивалось количество макрофагов и нейтрофилов, а в условиях деплеции нейтрофилов введение КонА не вызывало развитие гепатита. Деплеция нейтрофилов при КонА-гепатите приводила к уменьшению рекрутирования CD4+ в печень и значительному снижению повреждения органа. Это подтверждает данные о том, что нейтрофилы, во многих патологических условиях представляющие первый тип клеток, прибывающих в участок воспаления, являются ключевыми в рекрутировании других лейкоцитов. С другой стороны, не выявлено корреляции степени поражения печени и количества инфильтрирующих ее нейтрофилов при действии КонА на мышей, дефицитных по молекулам адгезии L-селектину и ICAM [12].

На модели иммунного воспаления печени Т-клеточного генеза нами установлено, что в ранний период (2–6 ч) заметно возрастала инфильтрация печени клетками-эффекторами воспаления нейтрофилами с последующим увеличением количества клеток адаптивного иммунитета — лимфоцитов. Эти результаты свидетельствуют в пользу предположения, что инфильтрация и активация нейтрофилов может быть существенным патогенетическим механизмом у пациентов с опосредованными Т-клетками заболеваниями печени.

Другим важным патогенетическим фактором при гепатитах является гибель клеток, циркулирующих в крови и инфильтрирующих печень. Показано усиление апоптоза клеток периферической крови при ряде заболеваний, в том числе при хронических вирусных гепатитах В и С [2]. Причем возрастала гибель как лимфоцитов, так и гранулоцитов. Введение КонА приводит к усилению гибели клеток иннатного и адаптивного иммунитета как в печени, так и в иммунокомпетентных органах [1, 4, 10, 15].

При КонА-индуцированном гепатите выявлено также повышение активности эффекторного апоптотического фермента каспазы-3, что было связано, в частности, с инфильтрирующими печень лимфоцитами, подвергающимися апоптотической активационно-индуцированной клеточной гибели [7]. Однако некроз лейкоцитов при заболеваниях печени изучен недостаточно. В данном исследовании выявлено возрастание некроза лейкоцитов на фоне усиленной инфильтрации ими ткани печени еще до наступления выраженных повреждений гепатоцитов. Мы предполагаем, что некроз, усиливающийся при развитии воспалительной реакции, и выход в ткань внутриклеточного содержимого (которое, в свою очередь, обладает провоспалительными и повреждающими свойствами) может по типу положительной обратной связи вносить существенный вклад в поражение печени, а также приводить к развитию иммунного ответа на собственные антигены.

Выводы

1. Гистологические исследования показали, что первыми при КонА-индуцированном иммунном гепатите происходили изменения воспалительного характера в сосудистом русле, за которыми следовали изменения в паренхиме печени.

2. Выявлено значительное усиление рекрутирования лейкоцитов в печень, причем вначале заметно возрастала нейтрофильная инфильтрация и лишь затем лимфоцитарная.

3. В ранние сроки после введения КонА усиливалась гибель клеток тимуса преимущественно по апоптотическому, а клеток селезенки — по некротическому пути.

4. Полученные результаты дают основание предполагать, что инфильтрация ткани печени лейкоцитами, особенно нейтрофилами, в сочетании с возрастанием некротической гибели пери-

ферических клеток иннатного и адаптивного иммунитета может быть существенным патогенетическим механизмом при воспалительных заболеваниях печени Т-клеточного генеза.

Список литературы

1. Алексеева И.Н., Макогон Н.В., Павлович С.И. и др. Влияние на экспериментальную иммунную патологию печени ингибитора активации ядерного транскрипционного фактора κB – куркумина // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2010. – Т. 20, № 1. – С. 38–43.
2. Буеверов А.О., Тихонина Е.В., Москалева Е.Ю. и др. Апоптоз периферических лейкоцитов при хронических вирусных гепатитах // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2000. – Т. 10, № 6. – С. 30–33.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 912 с.
4. Макогон Н.В., Павлович С.И., Бризина Т.М. и др. Проліферація та загибель мононуклеарних клітин печінки мишей за умов її імунного ураження, викликаного введенням конканаваліну А або протипечінкових антитіл // Фізіол. журн. – 2008. – Т. 54, № 6. – С. 49–57.
5. Batey R., Cao Q., Gould B. Lymphocyte-mediated liver injury in alcohol-related hepatitis // Alcohol. – 2002. – Vol. 27, N 1. – P. 37–41.
6. Bautista A.P. Neutrophilic infiltration in alcoholic hepatitis // Alcohol. – 2002. – Vol. 27, N 1. – P. 17–21.
7. Biburger M., Tiegs G. α -Galactosylceramide – induced liver injury in mice is mediated by TNF- α but independent of Kupffer cells // J. Immunol. – 2005. – Vol. 175. – P. 1540–1550.
8. Bonder C., Ajuebor M., Zbutnuik L. et al. Essential role for neutrophil recruitment to the liver in concanavalin A – induced hepatitis // J. Immunol. – 2004. – Vol. 172. – P. 45–53.
9. Eksteen B., Afford S., Wigmore S. et al. Immune-mediated liver injury // Semin. Liver Dis. – 2007. – Vol. 27, N 4. – P. 351–366.
10. Fayad R., Sennello J., Kim S. et al. Induction of thymocyte apoptosis by systemic administration of concanavalin A in mice: role of TNF- α , IFN- γ and glucocorticoids // Eur. J. Immunol. – 2005. – Vol. 35, N 8. – P. 2304–2312.
11. Jaruga B., Hong F., Kim W., Gao B. IFN- γ /STAT1 acts as a proinflammatory signal in T cell-mediated hepatitis via induction of multiple chemokines and adhesion molecules: a critical role of IRF-1 // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2004. – Vol. 207, N 5. – P. 1044–1052.
12. Kawasaki A., Hasegawa M., Horikawa M. et al. L-selectin and intercellular adhesion molecule – 1 regulate the development of Concanavalin A – induced liver injury // J. Leukoc. Biol. – 2006. – Vol. 79, N 4. – P. 696–705.
13. Shimizu S., Eguchi Y., Kamiike W. et al. Involvement of ICE family proteases in apoptosis induced by reoxygenation of hypoxic hepatocytes // Am. J. Physiol. – 1996. – Vol. 271, N 6. – P. 949–958.
14. Suzuki K., Otab H., Sasagawab S. et al. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes // Analytical Biochemistry. – 1983. – Vol. 132, N 2. – P. 345–352.
15. Takeda K., Hayakawa Y., Van Kaer L. et al. Critical contribution of liver natural killer T cells to a murine model of hepatitis // PNAS. – 2000. – Vol. 97, N 10. – P. 5498–5503.
16. Tiegs G., Hentschel J., Wendel A. A T-cell dependent Experimental liver Injury in mice inducible by concanavalin A // J. Clin. Invest. – 1992. – Vol. 90. – P. 196–203.
17. Tiegs G. Cellular and cytokine-mediated mechanisms of inflammation and its modulation in immune-mediated liver injury // Z. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 45, N 1. – P. 63–70.
18. Vergani D., Mieli-Vergani G. Aetiopathogenesis of autoimmune hepatitis // World J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 14, N 21. – P. 3306–3312.