

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕГКИХ И ПЕЧЕНИ И ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ВЫСОКОУСТОЙЧИВЫХ И НИЗКОУСТОЙЧИВЫХ К ГИПОКСИИ КРЫС ВИСТАР ПРИ ЛПС-ИНДУЦИРОВАННОЙ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ



Джалилова Д.Ш.

ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, Россия

Актуальность: в механизмах системной воспалительной реакции одним из ключевых факторов является кислородная недостаточность, обусловленная микроциркуляторными нарушениями. По сравнению с высокоустойчивыми (ВУ) и низкоустойчивыми (НУ) к недостатку кислорода животных в норме выше содержание фактора, индуцируемого гипоксией – HIF-1, который взаимосвязан с NF-κB, регулирующим воспалительные процессы. Вероятно, индивидуальная устойчивость к гипоксии может определять выраженность воспалительных реакций.

Цель работы – охарактеризовать морфологические изменения легких и печени, фагоцитарную активность клеток периферической крови при системной воспалительной реакции, индуцированной липополисахаридом (ЛПС), у животных с разной устойчивостью к гипоксии.

Материалы и методы: устойчивость к недостатку кислорода половозрелых самцов крыс Вистар (n=40) определяли в вентилируемой барокамере на «высоте» 11500 м. К ВУ к гипоксии относили крыс, у которых время до принятия бокового положения и признаков асфиксии «на высоте» составляло более 240 сек (n=15), к НУ – менее 80 сек (n=13). Среднеустойчивых к гипоксии животных в экспериментах не использовали.

Через месяц моделировали системную воспалительную реакцию внутрибрюшинным введением ЛПС *E. coli* O26:B6 («Sigma-Aldrich») в дозе 1,5 мг/кг. ВУ и НУ к гипоксии крысам контрольной группы внутрибрюшинно вводили физиологический раствор.

Через 24 ч после введения ЛПС животных выводили из эксперимента передозировкой золетила («Virbac Sante Animale», Франция), проводили морфологическое, морфометрическое исследование легких и печени, а также определяли содержание С-реактивного белка (СРБ) и кортикостерона, активность ферментов аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови. В периферической крови оценивали количество гранулоцитов и фагоцитарную активность.

Для оценки статистической значимости полученных результатов использовали U-критерий Манна-Уитни («Statistica 8.0»). Данные выражали в виде медианы и интерквартильного размаха Me (25%;75%).

Результаты

Через 24 ч после введения ЛПС по сравнению с контрольной группой как у ВУ, так и у НУ к гипоксии крыс число нейтрофилов в межальвеолярных перегородках легких было статистически значимо выше (табл. 1). Число нейтрофилов в межальвеолярных перегородках легких было выше у НУ к гипоксии крыс по сравнению с ВУ.

Таблица 1
Число нейтрофилов в межальвеолярных перегородках легких у ВУ и НУ к гипоксии крыс Вистар (n=23) контрольных групп и через 24 ч после введения ЛПС, Me (25%;75%)

Группа	Контрольная	24 ч ЛПС	p
ВУ (n=13)	2,1 (1,4-2,5)	6,8 (5,8-8,0)	0,003
НУ (n=10)	2,1 (1,7-2,7)	9,5 (8,7-9,9)	0,009
p	0,75	0,01	

Индекс стимуляции фагоцитарной активности клеток периферической крови через 24 ч после введения ЛПС повышался только у НУ к гипоксии животных, в то время как у ВУ изменения не обнаружены (рис. 3).

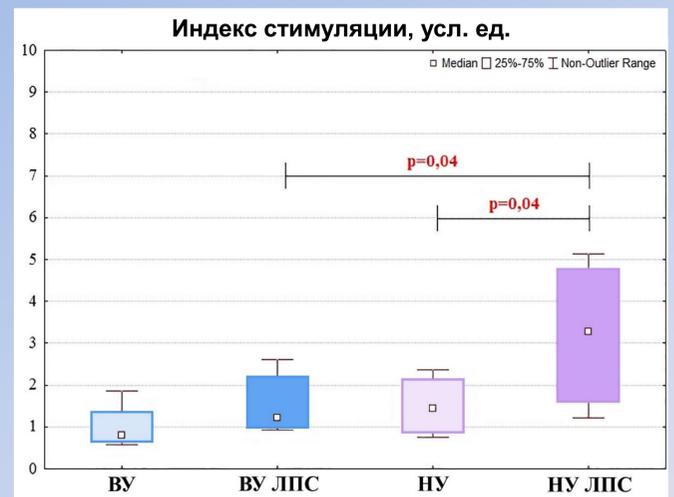


Рис. 3. Фагоцитарный индекс стимуляции клеток периферической крови у ВУ и НУ к гипоксии крыс Вистар контрольных групп и через 24 часа после введения ЛПС (ВУ ЛПС, НУ ЛПС), Me (25%;75%)

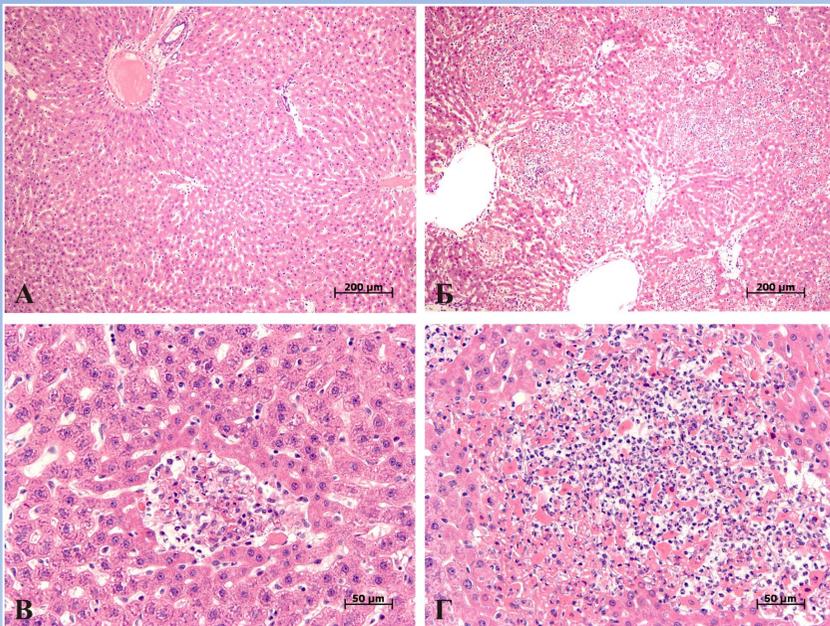


Рис. 1. Морфологические изменения в печени у ВУ (А, В) и НУ (Б, Г) к гипоксии крыс Вистар через 24 ч после введения ЛПС. ВУ (А, В) – очаговые некрозы, неравномерное полнокровие междольковых вен и артерий, синусоидных капилляров; НУ (Б, Г) — обширные некрозы. Окраска гематоксилином и эозином

В печени у 5 из 8 (63%) ВУ к гипоксии крыс после введения ЛПС выявлялись очаговые некрозы, у 3 из 8 (37%) животных наблюдалась умеренно выраженная мелкокапельная дистрофия гепатоцитов. У всех 5 (100%) НУ крыс были обнаружены некрозы, причем у 3 крыс из 5 (60%) они были ландшафтообразными (рис. 1).

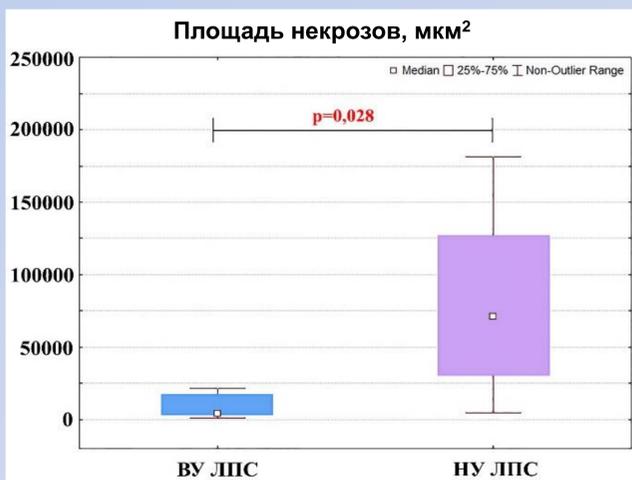


Рис. 2. Площадь некрозов в стандартном поле зрения (50000 мкм²) в печени у ВУ (n=5) и НУ (n=5) к гипоксии крыс Вистар через 24 ч после введения ЛПС, Me (25%;75%)

При морфометрической оценке площади некрозов было показано, что, по сравнению с ВУ, у НУ к гипоксии крыс этот показатель был статистически значимо выше (рис. 2).

Таблица 2
Уровень активности АЛТ и АСТ, содержание СРБ и кортикостерона в сыворотке крови у ВУ и НУ к гипоксии крыс Вистар (n=23) контрольных групп и через 24 ч после введения ЛПС, Me (25%;75%)

Показатель	Группа	Контрольная	24 ч ЛПС	p
АСТ, МЕ/л	ВУ (n=13)	147,6 (132,2-157,3)	895,5 (378,7-1290,9)	0,03
	НУ (n=10)	152,4 (140,8-168,9)	5048,3 (1599,5-6691,0)	0,02
	p	0,67	0,35	
АЛТ, МЕ/л	ВУ (n=13)	64,8 (55,6-74,5)	790,4 (246,2-1046,9)	0,01
	НУ (n=10)	67,6 (64,3-72,4)	4132,0 (1490,8-4420,4)	0,006
	p	0,83	0,25	
СРБ, пг/мл	ВУ (n=13)	1833 (1645-2585)	2115 (1974-2397)	0,60
	НУ (n=10)	1363 (1128-1551)	2421 (1810-2844)	0,04
	p	0,09	0,81	
Кортикостерон, нмоль/л	ВУ (n=13)	739,6 (384,6-767,2)	426,8 (402,4-556,0)	0,85
	НУ (n=10)	715,2 (701,6-764,0)	701,6 (653,2-725,6)	0,66
	p	0,92	0,04	

По данным биохимического анализа, через сутки после введения ЛПС в сыворотке крови как у ВУ, так и у НУ к гипоксии крыс уровень активности ферментов печени – АСТ и АЛТ, повышался по сравнению с контрольными группами (табл. 1). У НУ животных уровни активности АСТ и АЛТ были, соответственно, в 5,6 и 5,2 раза выше, по сравнению с ВУ, что свидетельствует о выраженных повреждениях гепатоцитов у этих животных.

По данным ИФА, по сравнению с контрольной группой через 24 ч после введения ЛПС только у НУ к гипоксии крыс концентрация маркера воспаления – СРБ в сыворотке крови увеличивалась (табл. 2). Концентрация кортикостерона в сыворотке крови у ВУ крыс была статистически значимо ниже по сравнению с НУ к гипоксии животными через 24 ч после введения ЛПС (табл. 2).

Заключение: по сравнению с высокоустойчивыми у низкоустойчивых к гипоксии крыс наблюдаются более выраженные проявления ЛПС-индуцированной системной воспалительной реакции, которые сопровождаются активацией фагоцитов периферической крови.