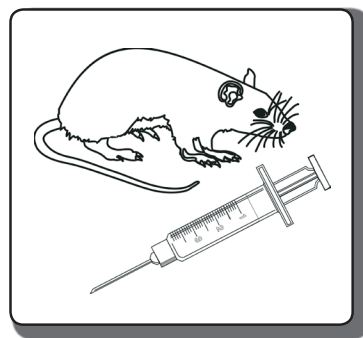


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 612.82.591.481.1:547.458:599.323.4

Б.Я. Рыжавский¹, О.А. Лебедько^{1,2}, О.В. Лазинская^{1,2}, Т.В. Соколова¹, М.С. Кузнецова²

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ОДНОМЕСЯЧНЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

¹Дальневосточный государственный медицинский университет,

680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Хабаровский филиал ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАН –
НИИ охраны материнства и детства, 680022, ул. Воронежская, 49, тел. 8-(4212)-98-05-91, г. Хабаровск

Резюме

Исследовались крысы линии Вистар, разделенные на следующие группы: 1) животные, которым, однократно в возрасте 1 мес. вводился липополисахарид (ЛПС) *E. coli* 026:B6 в дозе 25 мг/кг и 2) 2,5 мг/кг, а также 3) контрольная группа (n=15), которым внутривентриально вводился 0,9 % раствор хлорида натрия в эквивалентных с раствором ЛПС дозах. Эвтаназию крыс проводили через 3 суток после введения ЛПС. Мозг и легкие животных фиксировали в жидкости Карнуа, парафиновые срезы, полученные из собственно теменной доли (СТД) левого полушария, мозжечка окрашивали метиленовым синим, метиленовым синим и эозином, а также галлоцианином. В мозге при введении ЛПС в обеих дозах выявлялась периваскулярный и перичеселлюлярный отек, альтерация нейронов, наиболее выраженная в поле IV гиппокампа. В СТД неокортекса, преимущественно во внутренних слоях в небольшом количестве обнаруживались деформированные, резко гиперхромные нейроны, нейронофагия. В коре мозжечка значительное количество клеток Пуркинье имели гипербазофильную цитоплазму.

Ключевые слова: липополисахариды, мозг, мозжечок, гиппокамп.

B.Ya. Ryzhavsii¹, O.A. Lebedko^{1,2}, O.V. Lazinskaja^{1,2}, T.V. Sokolova¹, M.S. Kuznetsova²

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BRAIN OF ONE MONTH OLD RATS UNDER THE INFLUENCE OF LIPOPOLY SACCHARIDES

¹Far Eastern State Medical University;

²Khabarovsk branch «Far Eastern scientific center of physiology and pathology of respiration», Khabarovsk

Summary

The authors studied Wistar rats dividing them into the following groups: 1) animals receiving one dose of lipopolysaccharides (LPS) at the age of one month, *E. coli* 026:B6 in the dose of 25 mg/kg and 2) 2,5 mg/kg and 3) control group (n=15), which were receiving intraperitoneally 0,9 % solution of sodium chloride in equal volumes with the solution of LPS. Euthanasia of the rats was performed on the third day after LPS solution administration. The brain and lungs of the animals were placed in Karnau fluid, paraffin slices, received from the parietal proper lobe of the left hemisphere, cerebellum were dyed with methylene blue, methylene blue and eosine as well as halocyanine. Administration of LPS resulted in perivascular and perocellular edema, neurons alteration, mostly marked in the field of IV hippocamp. In neocortex, mainly in its inner layers, a small amount of deformed, severely hyperchromed neurons and neuronophagy were revealed. In cerebellum cortex a big amount of Purkinje cells had hyperbasophile cytoplasm.

Key words: lipopolysaccharides, brain, cerebellum, hippocamp.

ЛПС являются мощными индукторами воспаления, приводящими к усилению выработки цитокинов, активации иммунных клеток, выбросу воспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов, ферментов, свободных радикалов [3]. Введение ЛПС экспери-

ментальным животным индуцирует многочисленные изменения в разных системах, в том числе, нервной. При этом установлено, что интенсивность морфологических и функциональных изменений, развивающихся под действием ЛПС, зависит от способа и источника

его получения, пути введения препарата (внутрибрюшинно, подкожно, ингаляционно и др.), примененной дозы. Последствия введения ЛПС зависят также от эндокринного статуса, содержания в крови гормонов, в том числе, половых [6, 7]. При этом тяжесть морфологических повреждений, развивающихся под влиянием ЛПС, значительно различается в разных органах. Они, в частности, ярко выражены в легких, где оцениваются как их острое повреждение [10]. В связи с этим легкие могут служить «маркером» тяжести воздействия ЛПС.

ЛПС оказывают повреждающее действие на нервную систему, рассматриваются как индуктор нейровоспаления, которое может приводить к уменьшению количества нейронов, последующим нейродегенеративным расстройствам. При этом лизосомальные катепсины микроглиоцитов расцениваются как важные медиаторы воспаления [11, 12]. Установлено, что изменения, развивающиеся под влиянием ЛПС в мозге, выражены в неодинаковой степени в его разных отделах, различных слоях коры. При внутрибрюшинном введении ЛПС (30 мкг/кг) наблюдается повышение уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 в ткани дорсального гиппокампа и передней поясной коре головного мозга, наиболее значительное в 1-е сутки после инъекции ЛПС. Существенных изменений содержания провоспалительных цитокинов в

тканях головного мозга животных в изученные периоды после инъекции ЛПС при этом не обнаружено [8].

При хроническом действии ЛПС *E. coli* 026: B6 в коре мозга была характерна мозаичная картина поражения: наблюдались не только нейроны в состоянии повреждения, атрофии, но и высокий процент клеток с сохранной структурой и находящихся в состоянии повышенной функциональной активности. Повсеместным был процесс пролиферации микроглии [5]. Введение ЛПС *E. coli* 055:B5, в дозе 25mg/kg (умеренно пирогенная доза) 14-, 16-, 18-дневным крысам приводило к нарушениям исследовательского поведения, снижению продукции мРНК в клетках префронтальной коры в возрасте 22-23 дней [2].

Рассматривая последствия введения ЛПС на мозг в ранние периоды постнатального онтогенеза, следует, кроме того, принимать во внимание выраженные количественные и качественные изменения активности ферментов антиоксидантной системы в органе, наблюдающиеся в постнатальном онтогенезе, поскольку активация свободнорадикального окисления служит важным механизмом повреждения клеток при введении этих токсикантов [1].

Учитывая изложенное, настоящее исследование было посвящено изучению действия ЛПС *E. coli* 026: B6 на нейроны разных отделов мозга крыс в возрасте окончания у них молочного периода онтогенеза.

Материалы и методы

Исследование проведено на крысах линии Вистар, разделенных на следующие группы: 1) животные (n=7), которым, в возрасте 1 месяца однократно внутрибрюшинно вводился ЛПС *E. coli* 026:B6 (**Sigma**) в дозе 25 мг/кг, растворенный в 0,9 % раствор хлорида натрия 2) Во второй группе (n=8) крысам препарат вводился в дозе 2,5 мг/кг 3) Контрольная группа (n=15), которым внутрибрюшинно вводился 0,9 % раствор хлорида натрия в эквивалент-

ных с раствором ЛПС дозах. Эвтаназия крыс осуществлялась через 3 суток после введения ЛПС. Мозг и легкие животных всех групп фиксировали в жидкости Карнуа. Парафиновые срезы, полученные из собственно теменной доли (СТД) левого полушария и мозжечка, толщиной 7 мкм, окрашивали метиленовым синим, галлоцианином и метиленовым синим-эозином по Маю – Грюнвальду. Срезы легких окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение

Введение ЛПС в дозе 25 мг/кг привело к гибели двух из семи крысят, что свидетельствует о том, что примененная доза может рассматриваться как сублетальная. При дозе 2,5 мг/кг все подопытные животные выжили. Исследование легких оставшихся подопытных животных обеих групп выявило комплекс изменений, характерных для данных ситуаций, описанных в литературе и обозначаемых как острое повреждение легких [10].

Изучение мозга подопытных крыс выявило, что изменения при введении ЛПС в дозе 25 мг/кг и 2,5 мг/кг были идентичными. Они включали в себя периваскулярный и перицеллюлярный отек коры и белого вещества. Изменения нейронов были в разной степени выраженными в исследованных отделах органа. Их интенсивность была максимальной в гиппокампе, причем особенно – в поле IV. Эти изменения проявлялись значительным числом деформированных, пикнотизированных, нейронов, имевших резко гиперхромную цитоплазму. При этом в других полях гиппокампа, расположенных в этом же срезе, таких изменений не наблюдалось. Деформированные нейроны с гиперхромной цитоплазмой были характерны также для хилуса зубчатой извилины гиппокампа (рис. 1-3).

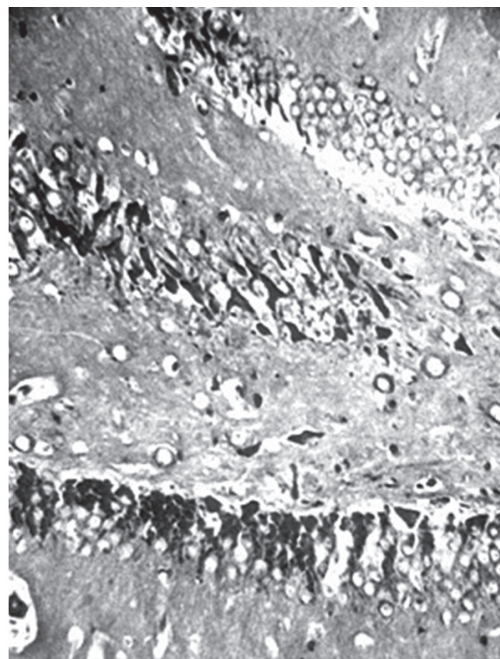


Рис. 1. Мозг подопытной крысы. Поле I (вверху) и поле IV (внизу) гиппокампа; в середине – хилус зубчатой извилины. Окраска метиленовым синим и эозином. Увеличение 10×10

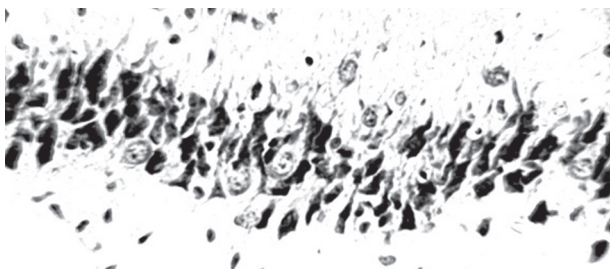


Рис. 2. Мозг подопытной крысы. Фрагменты поля IV гиппокампа. Большое количество деформированных нейронов с гиперхромной цитоплазмой. Окраска метиленовым синим и эозином. Увеличение 40×10

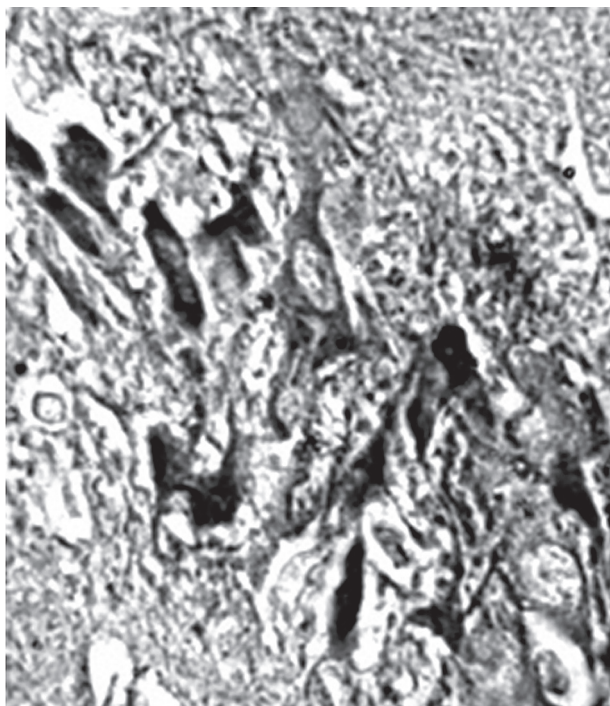


Рис. 3. Мозг подопытной крысы. Фрагменты поля IV гиппокампа. Большое количество деформированных нейронов с гиперхромной цитоплазмой. Окраска метиленовым синим и эозином. Увеличение 100×10

В СТД неокортекса, преимущественно во внутренних слоях в небольшом количестве обнаруживались деформированные нейроны с резко гиперхромной цитоплазмой. При этом подавляющее большинство нейронов, в том числе, расположенных в одном поле зрения с измененными, имели нормальную структуру. В некоторых участках неокортекса наблюдались также картины нейронофагии (рис. 4).

В коре мозжечка было отмечено большое количество клеток Пуркинье с гипербазофильной цитоплазмой. Такие клетки локализовались как на поверхности извилин коры, так и (в большем количестве) в стенках ее борозд. Хотя подобные клетки выявлялись и в коре мозжечка контрольных животных, их число в коре мозжечка у экспериментальных крыс было значительно большим. При этом обращало внимание, что среди нейронов молекулярного и зернистого слоев клетки с гиперхромной цитоплазмой не выявлялись (рис. 5), что свидетельствует о разной устойчивости различных нейронов коры мозжечка к действию ЛПС.

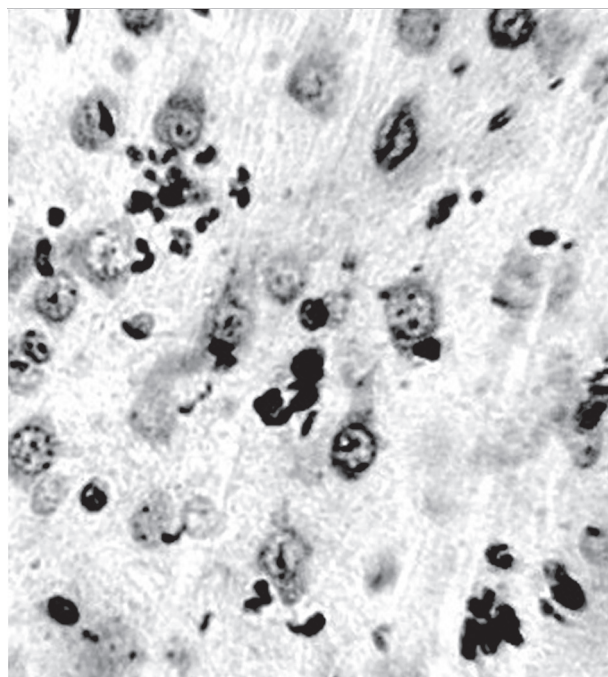


Рис. 4. Мозг подопытной крысы. Кора собственно теменной доли. Нейронофагия. Окраска галлоксианином. Увеличение 100×10

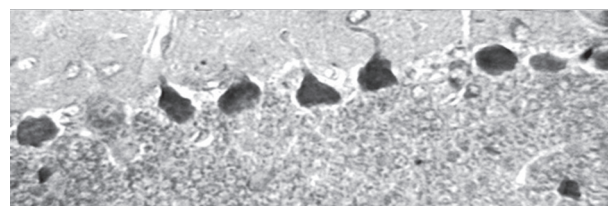


Рис. 5. Мозг подопытной крысы. Кора мозжечка в глубине борозды. Группа клеток Пуркинье с гипербазофильной цитоплазмой. Увеличение 40×10

Таким образом, внутрибрюшинное введение ЛПС *E. coli* 026: В6 в дозах, вызвавших острое повреждение легких, не приводило к столь резким морфологическим изменениям головного мозга. В то же время, оно обусловило альтерацию нейронов разных отделов головного мозга. При этом введение ЛПС в дозе 2,5 и 25 мг/кг привело к однотипным морфологическим изменениям. Заслуживает внимания тот факт, что выраженность изменений нейронов существенно различалась в исследованных отделах мозга. Более того, устойчивость нейронов к действию препарата отличалась в различных полях гиппокампа, слоях неокортекса, на поверхности и в глубине извилин и в разных слоях коры мозжечка.

Оценивая последствия влияния ЛПС, необходимо учитывать, что, вызывая полиорганное поражение, они могут действовать на мозг как прямо, так и опосредованно. В частности, тяжелое поражение легких, имевшееся у подопытных животных, способно обуславливать нарушения оксигенации крови, быть одним из факторов, приводящих к патологическим изменениям головного мозга, а изменения, возникающие в печени и вызывающие значительные отклонения от нормы химизма крови, также могут приводить к альтерации клеток мозга, появлению гипо- и гиперхромных нейронов [4, 7, 9].

Мы полагаем, что полученные результаты могут быть полезными для более полной оценки послед-

ствий заболеваний, обусловленных бактериальной инфекцией, часто наблюдающихся в детском возрасте.

Литература

1. Бахтюков А.А., Галкина О.В., Ещенко Н.Д. Активность ключевых ферментов антиоксидантной защиты в ходе раннего постнатального развития головного мозга крыс // *Нейрохимия*. – 2016. – Т. 33, № 3. – С. 215-221.
2. Вениаминова Е.А., Зубарева О.Е. Изменения исследовательского поведения и экспрессии гена Fgf2 в клетках мозга крыс после раннего постнатального введения бактериального липополисахарида // *Нейрохимия*. – 2015. – Т. 32, № 2. – С. 153-159.
3. Галазян Н.М., Белая О.Ф., Малов В.А. и соавт. Липополисахариды эндотоксины грамотрицательных бактерий: роль в развитии интоксикации // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2014. – № 2. – С. 11-16.
4. Дробленков А.В., Наумов Н.В., Монид М.В. и соавт. Реакция клеточных элементов головного мозга крыс на циркуляторную гипоксию // *Медицинский академический журнал*. – 2013. – Т. 13. – С. 19-28.
5. Ермолаев Н.В. Писарев В.Б. Новочадов В.В. Морфофункциональные изменения в коре головного мозга при хроническом эндотоксикозе у крыс // *Современные наукоемкие технологии*. – 2006. – № 2. – С. 36-38.
6. Косырева А.М., Диатропов М.Е. Морфологические проявления системного воспалительного ответа в печени и легких в разные фазы эстрального цикла // *Иммунология*. – 2013. – Т. 34, № 2. – С. 111-114.
7. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2009. – 277 с.

8. Тишкина А.О., Степанichev М.Ю., Лазарева Н.А. и соавт. Реакция глии гиппокампа грызунов на системное введение бактериального липополисахарида // *Нейрохимия*. – 2014. – Т. 31, № 2. – С. 176-180.
9. Филатов В.В., Глумов В.Я. Морфология и морфогенетические механизмы поражения головного мозга при остром разлитом перитоните // *Архив патологии*. – 2003. – № 3. – С. 32-35.
10. Чайлахян Р.К., Аверьянов А.В., Забозлаев Ф.Г. и соавт. Сравнительное исследование эффективности трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, культивированных в условиях нормоксии и гипоксии, и их кондиционированных сред на модели острого повреждения легких // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. – 2014. – № 1. – С. 25-32.
11. Bennett M.L., Bennett F.C., Liddel S.A., et al. New tools for studying microglia in the mouse and human CNS. *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2016. – Vol. 22. № 113 (12). – P. 1738-1746.
12. Fan K., Li D., Zhang Y., et al. The induction of neuronal death by up-regulated microglial cathepsin H in LPS-induced neuroinflammation // *J Neuroinflammation*. – 2015. – Vol. 19, № 12. – P. 54.
13. Wang B., Zhang Y., Cao W., et al. Plays Significant Roles in Lipopolysaccharides-Induced Neuroinflammation and Brain Injury in Mice // *Neurochem Res*. – 2016. – Vol. 41 (9). – P. 2490-2500.

Literature

1. Bakhtyukov A.A., Galkina O.V., Eshchenko N.D. The activities of key antioxidant enzymes in the early postnatal development of rats' brain // *Journal of neurochemistry*. – 2016. – Vol. 33, № 3. – P. 215-221.
2. Veniaminova E.A., Zubareva O.E. The changes in exploratory behavior and Fgf2 gene expression in cells of the rat brain after early postnatal administration of bacterial lipopolysaccharide // *Journal of neurochemistry*. – 2015. – Vol. 32, № 2. – P. 153-159.
3. Galazyan N.M., Belaya O.F., Malov V.A., et al. Lipopolysaccharides/endotoxins of gram-negative bacteria: their role in the development of intoxication // *Epidemiology and infectious diseases*. – 2014. – № 2. – P. 11-16.
4. Droblenkov A.V., Naumov N.V., Monid M.V., et al. The reaction of the cellular elements of rat brain to circulatory hypoxia // *Medical academic journal*. – 2013. – Vol. 13. – P. 19-28.
5. Ermolayev N.V., Pisarev V.B., Novochadov V.V. Morphofunctional changes in the cerebral cortex of rats due to chronic endotoxemia // *Science-intensive technologies*. – 2006. – № 2. – P. 36-38.
6. Kosyreva A.M., Diatropov M.E. Morphological manifestations of systemic inflammatory response in the liver and the lungs in different stages of oestrous cycle // *Immunology*. – 2013. – Vol. 34. – № 2. – P. 111-114.
7. Kosyreva A.I., Khomyakova T.I., Makarova O.V. Morphological and immunological characteristics of the

- systemic inflammatory response syndrome in orchietomized Wistar rats. – *Immunology*. – 2012. – Vol. 33. – № 4. – P. 194-198.
8. Tishkina O.A., Stepanichev M.Yu., Lazareva N.A., et al. The glial response in the rodent hippocampus to systemic administration of bacterial lipopolysaccharide // *Journal of neurochemistry*. – 2014. – Vol. 31. – № 2. – P. 176-180.
9. Filatov V.V., Glumov V.Ya., Morphology and morphogenetic mechanisms of brain impairment in acute generalized peritonitis. – *Archives of pathology*. – 2003. – № 3. – P. 32-35.
10. Chailakhyan R.K., Averyanov A.V., Zabolzayev F.G., et al. Comparison of the efficiency of transplantation of bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells cultured under normoxic and hypoxic conditions and their conditioned media on the model of acute lung injury // *Cell technologies in biology and medicine*. – 2014. – № 1. – P. 25-32.
11. Bennett M.L., Bennett F.C., Liddel S.A., et al. New tools for studying microglia in the mouse and human CNS. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016. – Vol. 22. – № 113 (12). – P. 1738-1746.
12. Fan K., Li D., Zhang Y., et al. The induction of neuronal death by up-regulated microglial cathepsin H in LPS-induced neuroinflammation // *J Neuroinflammation*. – 2015. – № 12, Vol. 19. – P. 54.

13. Wang B., Zhang Y., Cao W., et al. SIRT2 plays inflammation and brain injury in mice // *Neurochem Res.* – 2016. – Vol. 41 (9). – P. 2490-2500.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru; Лебедько Ольга Антоновна – д-р мед. наук, директор Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: leoaf@mail.ru; Лазинская Ольга Владимировна – старший преподаватель кафедры биологии и генетики ДВГМУ; Соколова Таисия Владимировна – доцент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ; Кузнецова Мария Станиславовна – аспирант Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru.



УДК 616-008.9:611.018.54:612.123+612.39:633.34]599.323.4

Н.А. Феоктистова, М.А. Штарберг, Е.А. Бородин

ЛИПИДЫ КРОВИ, ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА И ИХ ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ У КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ НА ПРОТЯЖЕНИИ ЖИЗНИ РАЦИОН, ОБОГАЩЕННЫЙ СОЕЙ

*Амурская государственная медицинская академия,
675000, ул. Горького, 95, тел. 8-(4162)-31-90-07, г. Благовещенск*

Резюме

В работе представлены результаты исследования влияния длительного применения рациона, обогащенного соей, на биохимические показатели плазмы крови, содержание липидов и продуктов их окислительной модификации в эритроцитах, печени и мозге, а также жирнокислотный состав липидов мозга самцов и самок беспородных лабораторных белых крыс. Прием сои не оказал существенного влияния на определяемые показатели в плазме крови и эритроцитах и сопровождался увеличением содержания фосфолипидов, витамина Е и снижением содержания окислительно модифицированных липидов в печени по отношению к животным контрольной группы, причем изменения были выражены в большей степени у самок. Липиды мозга животных, получавших сою, были менее окислены и в них уменьшалось содержание насыщенных пальмитиновой и стеариновой кислоты и возрастало содержание ненасыщенных олеиновой, линолеиновой и эйкозеновой кислот.

Ключевые слова: соя, крысы, липиды.

N.A. Feoktistova, M.A. Shtarberg, E.A. Borodin

LIPIDS OF BLOOD, LIVER AND BRAIN AND THEIR OXIDATIVE MODIFICATION IN RATS HAVING RECEIVED A LIFELONG DIET SUPPLEMENTED WITH SOYA

Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk

Summary

The paper presents the results of the study of the effect of long-term use of a diet enriched with soya on the biochemical indexes of blood plasma, the content of lipids and products of their oxidative modification in erythrocytes, liver and brain, as well as the fatty acid composition of the brain lipids of male and female laboratory white rats. Soy intake had no significant effect on the measured indexes in blood plasma and erythrocytes and was accompanied by the increase of the content of phospholipids, vitamin E, and the decrease of the content of oxidized lipids in the liver, the changes being more pronounced in females. The brain lipids of soy-fed animals were less oxidized and the content of saturated palmitic and stearic acid decreased and the content of unsaturated oleic, linoleic and eicosenic acids increased compared to the animals of the control group.

Key words: soy, rats, lipids.

Нервная ткань исключительно богата липидами [18]. Неудивительно, что в функционировании головного мозга в различные этапы онтогенеза и особенно в период старения важная роль отводится изменениям липидов [2] и особенно их окислительной модификации [3, 4]. Растительные масла являются основным ис-

точников ненасыщенных липидов и жирорастворимых антиоксидантов для организма животных и человека [11]. Самое распространенное растительное масло – соевое, на него приходится половина от всех производимых в мире растительных масел [19]. В литературе обсуждается способность продуктов из сои снижать