

Моделирование синдрома системного воспалительного ответа на анестезированных крысах

В. Г. Александров^{✉1,2}, Е. А. Губаревич^{1,2}, Г. А. Данилова¹, Т. С. Туманова^{1,2}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, 191186, Россия, Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

Сведения об авторах

Александров Вячеслав Георгиевич,
SPIN-код: 6752-2718, Scopus
AuthorID: 7202754123, ORCID:
0000-0002-5079-633X, e-mail:
aleksandrovv@infran.ru

Губаревич Елена Алексеевна,
ORCID: 0000-0003-2305-2279,
e-mail: elenagubarevich@mail.ru

Данилова Галина Анатольевна,
SPIN-код: 6784-1326, Scopus
AuthorID: 7003784398, e-mail:
danilovaga@infran.ru

Туманова Татьяна Сергеевна,
SPIN-код: 9054-0304, Scopus
AuthorID: 57109162900, ORCID:
0000-0001-6393-6699, e-mail:
TumanovaTS@infran.ru

Для цитирования:

Александров, В. Г., Губаревич, Е. А., Данилова, Г. А., Туманова, Т. С. (2020) Моделирование синдрома системного воспалительного ответа на анестезированных крысах. *Интегративная физиология*, т. 1, № 1, с. 51–60. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-1-51-60

Получена 11 июля 2019; прошла рецензирование 2 августа 2019; принята 27 августа 2019.

Права: © Авторы (2020). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Системное воспаление вызывает нарушение функций дыхания и кровообращения. Для экспериментального исследования механизмов этих нарушений необходимо моделировать синдром системного воспалительного ответа (ССВО) в условиях острого эксперимента на животных, анестезированных уретаном. Цель настоящей работы состояла в проверке гипотезы, согласно которой в указанных экспериментальных условиях можно воспроизвести один из симптомов ССВО, а именно — изменение количества и состава лейкоцитов крови. Работа выполнена на лабораторных крысах (самцы Вистар, вес 250–300 г), анестезированных уретаном (1600 мг/кг, в/б) и разбитых на три группы. Животные первой группы ($n = 5$) были подвергнуты операции, имитирующей некоторые оперативные подходы, используемые при изучении функций дыхания и кровообращения. Второй группе животных ($n = 5$) вводили внутривенно 500 мкг бактериального липополисахарида (ЛПС), растворенного в 1 мл физиологического раствора. В третьей группе крыс ($n = 5$) ложная операция сочеталась с введением ЛПС. Измерение количества лейкоцитов в образцах крови, взятых из хвостовой вены, показало, что введение ЛПС вызывало у животных второй и третьей групп снижение общего количества лейкоцитов, главным образом за счет нейтрофилов. Полученные результаты доказывают, что в условиях острого эксперимента на крысах, анестезированных уретаном, внутривенным введением ЛПС можно вызвать лейкопению, т. е. воспроизвести один из важнейших (наряду с тахикардией, тахипноэ и изменением температуры тела) симптомов ССВО.

Ключевые слова: синдром системного воспалительного ответа, крыса, бактериальный липополисахарид, лейкоциты, нейтрофилы.

Simulation of the systemic inflammatory response syndrome in anesthetized rats

V. G. Aleksandrov^{✉1,2}, E. A. Gubarevich^{1,2}, G. A. Danilova¹, T. S. Tumanova^{1,2}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

² Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika River Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

Authors

Vyacheslav G. Aleksandrov,
SPIN: 6752-2718, Scopus AuthorID:
7202754123, ORCID: 0000-0002-
5079-633X, e-mail:
aleksandrovv@infran.ru

Elena A. Gubarevich,
ORCID: 0000-0003-2305-2279,
e-mail: elenagubarevich@mail.ru

Galina A. Danilova, SPIN: 6784-1326,
Scopus AuthorID: 7003784398,
e-mail: daniilovaga@infran.ru

Tatyana S. Tumanova,
SPIN: 9054-0304, Scopus AuthorID:
57109162900, ORCID: 0000-0001-
6393-6699, e-mail:
TumanovaTS@infran.ru

For citation: Aleksandrov, V. G.,
Gubarevich, E. A., Danilova, G. A.,
Tumanova, T. S. (2020) Simulation
of the systemic inflammatory
response syndrome in anesthetized
rats. *Integrative Physiology*, vol. 1,
no. 1, pp. 51–60. DOI:
10.33910/2687-1270-2020-1-1-51-60

Received 11 July 2019; reviewed
2 August 2019; accepted 27 August
2019.

Copyright: © The Authors (2020).
Published by Herzen State Pedagogical
University of Russia. Open access
under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Systemic inflammation causes respiratory and circulatory dysfunctions. To study the mechanisms of these disorders, it is necessary to simulate the syndrome of systemic inflammatory response (SIRS) in an acute experiment on animals anesthetized with urethane. The aim of the present study was to test the hypothesis that one of the SIRS symptoms can be reproduced in these experimental conditions, namely — the change in the number and composition of blood leukocytes. The work was performed on laboratory rats (male Wistar, 250–300 grams) anesthetized with urethane (1600 mg/kg, i. p.) and divided into three groups. Animals of the first group (n = 5) underwent surgery simulating some surgical approaches used in the study of respiratory and circulatory functions. The second group (n = 5) was administered intravenously with 500 µg of bacterial lipopolysaccharide (LPS) dissolved in 1 ml of saline. In the third group (n = 5) the sham operation was combined with the introduction of LPS. Measurement of the number of white blood cells in blood samples taken from the caudal vein showed that the introduction of LPS in the second and third groups caused a decrease in the total number of white blood cells, mainly due to neutrophils. The obtained results prove that in an acute experiment in rats anesthetized with urethane, intravenous LPS can cause leucopenia, that is, reproduce one of the most important (along with tachycardia, tachypnea, and changes in body temperature) symptoms of SIRS.

Keywords: systemic inflammatory response syndrome, rat, bacterial lipopolysaccharide, leukocytes, neutrophils.

Введение

Известно, что в ответ на действие патогенных факторов инфекционной и неинфекционной природы нередко развивается тяжелый патологический процесс, который определяется термином «синдром системного воспалительного ответа» (ССВО). Этот термин (англ. systemic inflammatory response syndrome (SIRS)) был принят в 1992 г. на конференции Американской коллегии торакальных хирургов и Общества специалистов интенсивной терапии (Bone et al. 1992). ССВО был включен в Международную статистическую классификацию болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10), в качестве самостоятельной рубрики (R65). Этот синдром характеризуется следующими основными симптомами: температура тела фебриль-

ная ($\geq 38^\circ\text{C}$) или пониженная ($\leq 36^\circ\text{C}$); частота сердечных сокращений $\geq 90/\text{мин}$ (тахикардия); частота дыхания $\geq 20/\text{мин}$ (тахипноэ); лейкоцитоз ($\geq 12000/\mu\text{l}$) или лейкопения ($\leq 4000/\mu\text{l}$), или более 10% незрелых форм лейкоцитов. Диагноз ССВО ставится при наличии как минимум двух из перечисленных симптомов (Bone et al. 1992; Zimmerman, Ringer 1992; Bone 1996; Черешнев, Гусев 2002). ССВО сопровождается нарушением функций систем дыхания и кровообращения, увеличивает риск развития полиорганной недостаточности. Ключевую роль в развитии ССВО играет бактериальный липополисахарид (ЛПС) — компонент стенки грамотрицательных бактерий, который постоянно присутствует в системном кровотоке и эффективно нейтрализуется антиэндотоксическими системами. Обычным источником ЛПС в организме являются бактерии,

входящие в состав микрофлоры кишечника (Межирова и др. 2011). При развитии системного воспаления происходит нарушение барьерной функции стенки кишечника, а также массовое разрушение бактерий, что приводит к повышению системного уровня ЛПС. В свою очередь, ЛПС вызывает усиленную продукцию про- и противовоспалительных цитокинов лейкоцитами и другими клетками, поэтому ССВО сопровождается гиперцитокинемией (Симбирцев, Тотолян 2015; Garami et al. 2018; Herzum, Renz 2008). Известно, что провоспалительные цитокины могут оказывать влияние на структуры центральной нервной системы, в том числе на структуры, участвующие в контроле автономных функций (Black 1994; Benveniste 1998; Probert 2015; Müller 2017, Kim et al. 2019). Поэтому можно предполагать, что повышенный уровень провоспалительных цитокинов является фактором, который оказывает негативное влияние на нервные механизмы регуляции функций дыхания и кровообращения при ССВО. Исследование физиологических механизмов этих процессов требует разработки методов моделирования ССВО на экспериментальных животных, в том числе методов, пригодных к использованию в острых экспериментах. Одним из методических приемов, при помощи которого удастся моделировать ССВО, является внутривенное или внутрибрюшинное введение препарата ЛПС. Как правило, эта модель воспроизводилась на подвижных животных (Wong, Rodriguez 2008; Stahl, Löffler, Haier et al. 2013; Steven, Dib, Roohani et al. 2017). При использовании общих анестетиков возникает вопрос об их возможном влиянии на эффекты ЛПС. Имеются работы, в которых ЛПС вводили животным, анестезированным севофлураном (Beck-Schimmer, Baumann, Restin et al. 2017), пропофолом (Schläpfer, Piegeler, Dull et al. 2015), пентобарбиталом и смесью уретана и хлоралозы (Kazerani, Furman 2006), а также чистым уретаном (Сао et al. 1997). В этих работах по большей части исследовался возможный протективный эффект анестетиков по отношению к ЛПС, и было установлено, что они действительно способны ослаблять или, наоборот, усиливать влияние введения ЛПС на многие органы и ткани. Полученные результаты указывают на то, что при моделировании эффектов ССВО в острых экспериментах действительно следует учитывать эффекты анестетиков. Вместе с тем в указанных работах не ставилась задача моделирования ССВО, в частности не оценивались изменения в количестве и составе лейкоцитов крови под влиянием ЛПС. Считается,

что при изучении автономных функций наиболее подходящим анестетиком является уретан. Действуя в широком диапазоне доз, этот анестетик не вызывает снижения артериального давления, не угнетает дыхание, обеспечивает стабильную двигательную активность желудочно-кишечного тракта. Установлено, что уретан несколько ослабляет, но не устраняет пирогенный эффект ЛПС (Сао et al. 1997). Имеются экспериментальные данные, которые свидетельствуют, что введение ЛПС животным, находящимся под уретановой анестезией, позволяет воспроизвести один из основных симптомов ССВО, а именно повышение частоты сердечных сокращений (Туманова, Александров 2016). Цель настоящей работы состояла в экспериментальной проверке гипотезы, согласно которой внутривенное введение ЛПС крысам, находящимся под уретановой анестезией, позволит воспроизвести другой симптом ССВО, а именно — изменение количества и состава лейкоцитов крови. Предполагалось, что полученные результаты позволят сделать обоснованное заключение о возможности использования ЛПС для моделирования ССВО в условиях общей уретановой анестезии.

Объект и методы исследования

Объект исследования

Для проведения экспериментов было использовано 15 крыс линии Wistar (самцы, вес 250–300 г) из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». Содержание и использование животных осуществлялось в соответствии с ГОСТом 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», учитывающим основные положения Приложения А к Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS № 123). Эвтаназия животных по окончании эксперимента производилась путем передозировки анестетика.

Методы исследования

Хирургическая подготовка животных

Эксперименты проводились под общей анестезией (уретан в/б, 1600 мг/кг) и предусматривали хирургическую подготовку, в ходе которой производилась катетеризация хвостовой вены для отбора образцов крови и введения ЛПС.

При проведении экспериментов, протокол которых предусматривал выполнение «ложных» операций, дополнительно производился продольный разрез на вентральной поверхности шеи, лапаротомия по средней линии и разрез на внутренней поверхности бедра, все разрезы зашивались. Таким путем воспроизводились оперативные подходы, обычно используемые при экспериментальном исследовании функций висцеральных систем: трахеостомия, обеспечение доступа к органам брюшной полости и диафрагме, а также к крупным сосудам.

Гематологический анализ

Кровь в количестве 50 мкл отбирали в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл, содержавшие 250 мкл буфера с ЭДТА. Пробу крови тщательно перемешивали и анализировали в течение 2 ч после забора. Для анализа лейкоцитарной формулы крови использовали автоматический гематологический анализатор Abacus Junior Vet, фирмы Diatron, полностью автоматизированный для подсчета клеток крови и эритроцитарных индексов. Учитывали количество лейкоцитов (WBC), количество лимфоцитов (LYM), нейтрофилов (GRA) и моноцитов/эозинофилов и их предшественников (MID).

Экспериментальные протоколы

Протокол экспериментов предусматривал отбор 10 проб крови, причем первая проба отбиралась непосредственно после установки венозного катетера, а остальные с интервалом в 30 мин. Весь эксперимент, таким образом, длился 4,5 ч. По этой схеме было проведено три серии экспериментов, каждая из которых имела свои особенности.

В первой серии ($n = 5$) после взятия 1-й пробы проводилась «ложная» операция, а между 3-й и 4-й пробам вводится 1 мл физраствора. Затем отбирались остальные пробы.

Во второй серии ($n = 5$) «ложная» операция не проводилась, а между 3-й и 4-й пробам вводилось внутривенно 500 мкг ЛПС (Sigma-Aldrich), растворенного в 1 мл физиологического раствора. После этого также отбирались остальные пробы.

В третьей серии экспериментов ($n = 5$) между 1-й и 2-й пробам производилась «ложная» операция, а между 3-й и 4-й пробам вводится ЛПС в той же дозировке.

Эффективность указанной дозы ЛПС была установлена в экспериментах с регистрацией активности систем дыхания и кровообращения, в которых она вызывала рост ЧСС и усиление

вентиляции легких (Туманова, Александров, 2019).

Статистическая обработка экспериментальных данных

Результаты экспериментов заносились в таблицы MSExcel и обрабатывались статистически с помощью опции «описательная статистика». Полученные средние величины и их ошибки наносились на графики. Для оценки достоверности полученных различий использовался однофакторный дисперсионный анализ, а также непараметрический критерий Манна — Уитни. Различия считались достоверными при $P < 0,01$.

Результаты

Эффекты оперативного вмешательства

Общее количество всех лейкоцитов (WBS) до операции составляло в среднем $20,74 \pm 5 \times 10^3$ кл/мкл. После операции наблюдалось постепенное увеличение этого показателя до $37,84 \pm 4,43 \times 10^3$ кл/мкл на 120-й мин, затем некоторое снижение и стабилизация на уровне около 30×10^3 кл/мкл до конца эксперимента (рис. 1).

Количество нейтрофилов (NEUT) до операции составляло $5,6 \pm 1,27 \times 10^3$ кл/мкл. После операции NEUT также постепенно росло и через 2 ч стабилизировалось на уровне $20 - 21 \times 10^6$ кл/мкл, причем этот уровень был достоверно выше исходного. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что кривые, отражающие изменения общего количества лейкоцитов и количества нейтрофилов, практически параллельны. Количество лимфоцитов (LYM) до операции равнялось $14,2 \pm 4,74 \times 10^3$ кл/мкл.

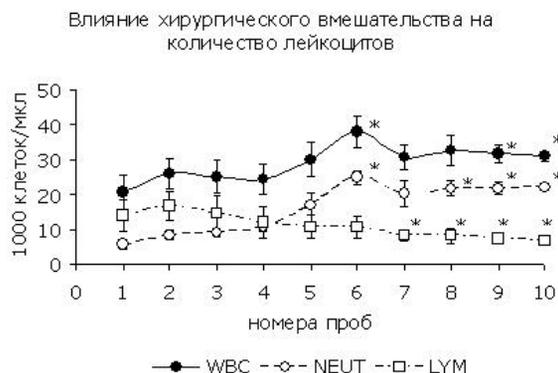


Рис. 1. Влияние хирургического вмешательства на количество лейкоцитов

Fig. 1. Effect of sham surgery on white blood cell count

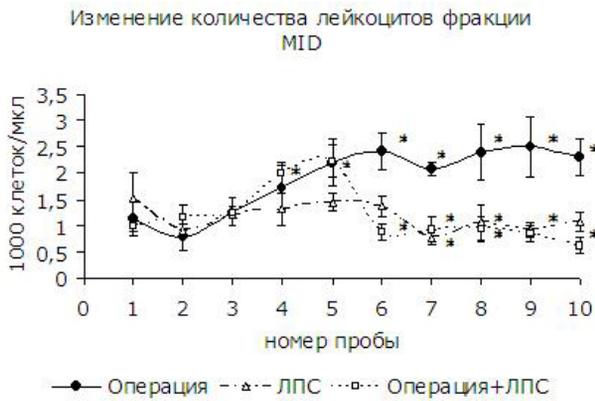


Рис. 2. Изменение количества лейкоцитов фракции MID

Fig. 2. Alteration in count of MID leukocytes

По ходу эксперимента происходило плавное снижение LYM до $6,7 \pm 1,12 \times 10^3$ кл/мкл на 240-й мин эксперимента. Показатель MID до операции равнялся $1,14 \pm 0,34 \times 10^6$ кл/мкл. В 4-й пробе он составлял уже $1,72 \pm 0,42 \times 10^3$ кл/мкл, а к концу эксперимента $2,3 \pm 0,34 \times 10^3$ кл/мкл, т. е. практически удваивался (рис. 2).

Полученные результаты показывают, что хирургическая подготовка животного к острому эксперименту в условиях уретановой анестезии вызывает лейкоцитоз. Это происходит, главным образом, вследствие подъема уровня нейтрофилов. Кроме того, происходит некоторое повышение уровня моноцитов, эозинофилов и их предшественников.

Эффекты введения ЛПС

В течение первого часа до введения ЛПС показатель WBC незначительно повышался, но этот рост был в пределах статистической погрешности. Непосредственно перед введением ЛПС показатель WBC равнялся $21,5 \pm 4,89 \times 10^3$ кл/мкл, а затем начинал снижаться. Через 90 мин после введения он составлял $12,5 \pm 3,31 \times 10^3$ кл/мкл и на этом уровне оставался до конца эксперимента (рис. 3).

Количество нейтрофилов в течение первого часа до введения ЛПС постепенно росло, но введение ЛПС прерывало этот рост. Непосредственно перед введением показатель NEUT составлял $9,3 \pm 1,93 \times 10^3$ кл/мкл, через час после введения ЛПС количество нейтрофилов снижалось до $5,5 \pm 0,88 \times 10^3$ кл/мкл. Количество лимфоцитов в первой пробе составляло $10,9 \pm 4,09 \times 10^3$ кл/мкл, а затем постепенно снижалось, составляя в конце эксперимента $3 \pm 0,79 \times 10^3$ кл/мкл. Показатель MID непосредственно перед введением составлял $1,2 \pm 0,17 \times 10^3$ кл/мкл, в течение часа после

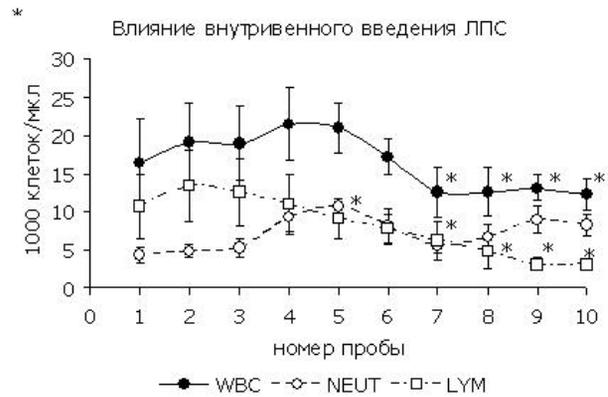


Рис. 3. Влияние внутривенного введения ЛПС

Fig. 3. Effect of intravenous LPS

введения проявлял тенденцию к росту, а затем возвращался к исходным значениям (рис. 2). Таким образом, введение ЛПС приводило к лейкопении, вследствие снижения уровня нейтрофилов, которое происходило параллельно с падением уровня лимфоцитов. Динамика процесса снижения количества лимфоцитов не отличалась от той, которая наблюдалась у ложнооперированных животных.

Эффекты сочетания хирургического вмешательства и ЛПС

В третьей серии экспериментов общее содержание лейкоцитов в первой пробе составляло $27,6 \pm 1,19 \times 10^3$ кл/мкл, из них нейтрофилов $10,5 \pm 1,97 \times 10^3$ кл/мкл, лимфоцитов $15,9 \pm 1,36 \times 10^3$ кл/мкл, остальное приходилось на клетки фракции MID. Эксперименты показали, что и в этой серии ложная операция вызывала достоверное увеличение общего числа лейкоцитов (рис. 4).

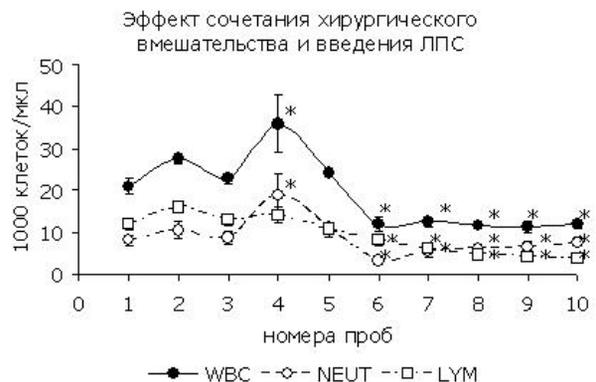


Рис. 4. Эффект сочетания хирургического вмешательства и введения ЛПС

Fig. 4. Effect of sham surgery and intravenous LPS combined

В 3-й пробе показатель WBC составлял в среднем $35,8 \pm 6,89 \times 10^3$ кл/мкл, а в 1-й и 2-й соответственно $27,6 \pm 1,19 \times 10^3$ кл/мкл и $21,9 \pm 1,35 \times 10^3$ кл/мкл, причем увеличение происходило главным образом за счет роста количества нейтрофилов. Однако уже в 4-й пробе после введения ЛПС общее количество лейкоцитов резко уменьшалось, причем главным образом за счет снижения числа нейтрофилов. Такую же динамику демонстрировал показатель MID (рис. 2). Таким образом, и в этой серии экспериментов ложная операция стимулировала развитие нейтрофильного лейкоцитоза, как и в экспериментах 1-й серии. Однако введение ЛПС прерывало этот процесс, и преобладающим эффектом становилась нейтрофильная лейкопения, так же как и во 2-й серии экспериментов. Что касается содержания лимфоцитов, то в течение всего времени эксперимента оно монотонно снижалось, подобно тому, как это имело место в экспериментах двух первых серий. Иными словами, и в этой экспериментальной серии «ложная» операция запускала нейтрофильный лейкоцитоз, а ЛПС — лейкопению.

Обсуждение полученных результатов

Резюмируя результаты проведенных экспериментов, следует сделать вывод: оперативное вмешательство вызывало стабильный лейкоцитоз, а ЛПС — лейкопению. При сочетании оперативного вмешательства и введения ЛПС оперативное вмешательство стимулирует повышение количества лейкоцитов, но введение ЛПС прерывает этот процесс и приводит к стабильной лейкопении приблизительно через 40–45 мин после введения. Таким образом, эффектом действия ЛПС в условиях острого эксперимента на крысах, анестезированных уретаном, является устойчивая лейкопения. При этом разные фракции лейкоцитов по-разному реагировали на экспериментальные воздействия. Количество нейтрофилов после «ложной» операции возрастает, а после введения ЛПС уменьшается. При сочетании операции и введения ЛПС уровень нейтрофилов сначала повышается, а потом снижается. Во всех экспериментах динамика показателя NEUT соответствует динамике WBC и, по-видимому, определяет ее. Динамика количества лимфоцитов во всех экспериментах была единообразной и сводилась в общем к постепенному снижению их числа по ходу эксперимента. Экспериментальные воздействия не оказывали достоверного влияния на этот процесс. Что касается клеток фракции MID, то динамика их численности была такой же, как динамика численности нейтрофилов.

Результаты проведенных экспериментов позволяют сделать несколько выводов. Во-первых, в условиях уретановой анестезии само оперативное вмешательство вызывает у крыс лейкоцитоз в результате повышения уровня нейтрофилов и, отчасти, лейкоцитов фракции MID. Во-вторых, ЛПС устраняет этот эффект и вызывает лейкопению вследствие уменьшения количества нейтрофилов. В-третьих, нейтрофильная лейкопения является основным эффектом ЛПС в указанных экспериментальных условиях. Таким образом, именно динамика нейтрофилов определяла динамику общего количества лейкоцитов во всех экспериментах.

Известно, что повышение уровня ЛПС в плазме и развитие лейкоцитоза, в основном за счет роста количества нейтрофилов, нередко происходит при различных травмах, в том числе и при хирургических вмешательствах (James et al. 1999, Черешнев и др. 2011). В то же время лимфоциты при подобных стрессовых воздействиях подвергаются апоптозу, а их количество уменьшается (Гельфанд и др. 2009). Таким образом, наши данные о развитии нейтрофильного лейкоцитоза у ложнооперированных крыс вполне соответствуют литературным данным. Как уже упоминалось, динамика лейкоцитов как в ту, так и в другую сторону (лейкоцитоз и лейкопения) является одним из критериев ССВО. С другой стороны, подобные эффекты вызывает и повышение системного уровня ЛПС, которое также может вызвать повышение или понижение количества нейтрофилов у интактных и ложнооперированных животных (Altenburg, Martins, Silva et al. 1997; Галкин, Демидова 2015). Разнонаправленность реакций нейтрофилов на ЛПС рассматривается как результат развития связанных между собой, но различных процессов, влияющих на поведение нейтрофилов. Одним из таких механизмов является так называемое «краевое стояние», т. е. адгезия нейтрофилов на эндотелии сосудов. Возможен и массовый выход нейтрофилов из сосудистого русла, «паралич нейтрофилов» и другие. Всего существует более десятка эндогенных факторов, действующих при повышении системного уровня ЛПС и изменяющих функции нейтрофилов, причем разные факторы преобладают на различных фазах развития ответной реакции организма на введение ЛПС (Wagner, Roth 1999). Что касается лейкоцитов фракции MID, то известно, что они являются источником провоспалительных медиаторов, выделяющихся при развитии воспалительного ответа (Rudiger, Stotz, Singer 2008). Имеются данные об их накоплении при введении ЛПС (Castro-Faria-Neto, Penido,

Larangeira et al. 1997). В литературе существуют данные, которые позволяют проанализировать вопрос о влиянии анестезии на изменения лейкоцитарной формулы, происходящее в ответ на введение ЛПС. Так, в одной из работ оценивалась связь между фактором некроза опухоли альфа (ФНО- α), лейкоцитами (WBC), кортикостероном и выживаемостью подвижных животных, инъецированных различными дозами ЛПС (0,0001–28,8 мг/кг). После введения ЛПС дозозависимая лейкопения достигала максимального уровня через 2–4 ч (Feuerstein et al. 1990). В другом исследовании, посвященном действию соматотропина на иммунную систему подвижных животных, СВР моделировалась введением 5мг/кг ЛПС. Обычным эффектом ЛПС была лейкопения, однако изменения лейкоцитарной формулы могли быть различными. Наблюдалось, в частности, снижение количества лимфоцитов (лимфопения) и увеличение количества нейтрофилов (нейтрофилия) (Roelfsema et al. 2001). Снижение числа лейкоцитов при моделировании ССВО введением ЛПС наблюдалось и при экспериментах на анестезированных животных. В одной из работ (Mathiak et al. 2000) после анестезии раствором кетамина/ксилазина и введения ЛПС (65 мг/кг) в течение часа наблюдали снижение общего числа лейкоцитов от $13,95 \times 10^3/\text{мкл}$ до $5,16 \times 10^3/\text{мкл}$. В другом исследовании (Short et al. 1999) на фоне этого же анестетика зафиксировано снижение количества нейтрофилов на 88 % в течение 30 мин после введения 1мг/кг ЛПС. Имеются данные о влиянии ЛПС на уровень лейкоцитов, полученные в условиях острых экспериментов, которые проводились под барбитуратной анестезией (Као,

Wang, Lin, Chen 2006). Введением 10 мг/кг ЛПС вызывали острое повреждение легких (ALI), патологическое состояние, которое является одной из моделей СВР. Данная модель использовалась для оценки эффекта N-ацетилцистеина на ALI, вызванное введением ЛПС. Авторы констатировали наличие ALI, в том числе и по снижению количества лейкоцитов (WBC) в течение трёх часов с $7,22 \pm 0,61 \times 10^6/\text{мл}$ до $2,21 \pm 0,14 \times 10^6/\text{мл}$. Таким образом, литературные данные свидетельствуют, что в условиях острых экспериментов, проводимых под общей анестезией, вызванной разными анестетиками, лейкопения и нейтропения (агранулоцитоз) являются обычным эффектом ЛПС. Полученные нами результаты свидетельствуют, что такой же эффект ЛПС проявляется и в острых экспериментах, выполняемых в условиях общей уретановой анестезии. Предыдущими исследованиями (Туманова, Александров 2016) установлено, что введение ЛПС крысам, анестезированным уретаном, приводит к проявлению еще одного симптома ССВО, а именно повышению частоты сердечных сокращений. Кроме того, наблюдалось усиление вентиляции. Эти данные позволяют сделать вывод: введение ЛПС в системный кровоток является методическим приемом, который действительно можно использовать для моделирования ССВО в острых экспериментах на крысах, анестезированных уретаном. Использование этого методического приема позволяет планировать и проводить эксперименты по изучению особенностей функционирования висцеральных систем и механизмов их контроля в условиях системного воспалительного ответа.

Литература

- Галкин, А. А., Демидова, В. С. (2015) Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа. *Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б. М. Костюченко*, т. 2, № 2, с. 25–31. DOI: 10.17650/2408-9613-2015-2-2-25-31
- Гельфанд, Б. Р., Салтанов, А. И. (ред.) (2009) *Интенсивная терапия: национальное руководство*: в 2 т. Т. 1. М.: ГЭОТАР-Медиа, 955 с.
- Межирова, Н. М., Данилова В. В., Овчаренко, С. С. (2011) Патофизиологические и диагностические аспекты синдрома системного воспалительного ответа. *Медицина неотложных состояний*, № 1–2, с. 34–40.
- Симбирцев, А. С., Тотолян, А. А. (2015) Цитокины в лабораторной диагностике. *Инфекционные болезни*, № 2, с. 82–98.
- Туманова, Т. С., Александров, В. Г. (2016) Влияние бактериального липополисахарида на рефлекторные механизмы кардиореспираторной системы анестезированной крысы. В кн.: А. И. Григорьев, Ю. В. Наточин, Р. И. Сепиашвили и др. (ред.). *Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России, Конференции ADFLIM*. Сочи: б. и., с. 158. (Acta Naturae. Спецвыпуск: в 2 т. Т. 1.)
- Черешнев, В. А., Гусев, Е. Ю. (2002) Системное воспаление как иммунопатобиологический феномен. *Цитокины и воспаление*, т. 1, № 2, с. 17.
- Черешнев, В. А., Шилов, М. И., Черешнева М. В. и др. (2011) Экспериментальные модели в патологии. Пермь: Изд-во ПГНИУ, 267 с.

- Altenburg, S. P., Martins, M. A., Silva, A. R. et al. (1997) LPS-induced blood neutrophilia is inhibited by alpha 1-adrenoceptor antagonists: A role for catecholamines. *The Journal of Leukocyte Biology*, vol. 61, no. 6, pp. 689–694. PMID: 9201259. DOI: 10.1002/jlb.61.6.689 (In English)
- Beck-Schimmer, B., Baumann, L., Restin, T. et al. (2017) Sevoflurane attenuates systemic inflammation compared with propofol, but does not modulate neuro-inflammation: A laboratory rat study. *European Journal of Anaesthesiology*, vol. 34, no. 11, pp. 764–775. PMID: 28759530. DOI: 10.1097/EJA.0000000000000668 (In English)
- Benveniste, E. N. (1998) Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine & Growth Factors Reviews*, vol. 9, no. 3–4, pp. 259–275. PMID: 9918124. DOI: 10.1016/S1359-6101(98)00015-X (In English)
- Black, P. H. (1994) Immune system-central nervous system interactions: Effect and immunomodulatory consequences of immune system mediators on the brain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 38, no. 1, pp. 7–12. PMID: 8141583. DOI: 10.1128/AAC.38.1.7 (In English)
- Bone, R. C. (1996) Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Critical Care Medicine*, vol. 24, no. 1, pp. 163–172. PMID: 8565523. DOI: 10.1097/00003246-199601000-00026 (In English)
- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B. et al. (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, vol. 101, no. 6, pp. 1644–1655. PMID: 1303622. DOI: 10.1378/chest.101.6.1644 (In English)
- Cao, C., Matsumura, K., Yamagata, K., Watanabe, Y. (1997) Involvement of cyclooxygenase-2 in LPS-induced fever and regulation of its mRNA by LPS in the rat brain. *American Journal of Physiology*, vol. 272, no. 6, pt. 2, pp. R1712–R1725. PMID: 9227582. DOI: 10.1152/ajpregu.1997.272.6.R1712 (In English)
- Castro-Faria-Neto, H. C., Penido, C. M., Larangeira, A. P. et al. (1997) A role for lymphocytes and cytokines on the eosinophil migration induced by LPS. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 92, suppl. II, pp. 197–200. PMID: 9698933. DOI: 10.1590/s0074-02761997000800026 (In English)
- Feuerstein, G., Hallenbeck, J. M., Vanatta, B. et al. (1990) Effect of gram-negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF alpha, circulating blood cells, and the survival of rats. *Circulatory Shock*, vol. 30, no. 3, pp. 265–78. PMID: 2178800. (In English)
- Garami, A., Steiner, A. A., Romanovsky, A. A. (2018) Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 157, pp. 565–597. PMID: 30459026. DOI: 10.1016/B978-0-444-64074-1.00034-3 (In English)
- Herzum, I., Renz, H. (2008) Inflammatory markers in SIRS, sepsis and septic shock. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 15, no. 6, pp. 581–587. PMID: 18336272. DOI: 10.2174/092986708783769704 (In English)
- Kao, S. J., Wang, D., Lin, H. I., Chen, H. I. (2006) N-acetylcysteine abrogates acute lung injury induced by endotoxin. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 33, no. 1–2, pp. 33–40. PMID: 16445696. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2006.04320.x (In English)
- Kazerani, H. R., Furman, B. L. (2006) Comparison of urethane/chloralose and pentobarbitone anaesthesia for examining effects of bacterial lipopolysaccharide in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, vol. 20, no. 4, pp. 379–384. PMID: 16867022. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2006.00413.x (In English)
- Kim, Y. K., Amidfar, M., Won, E. (2019) A review on inflammatory cytokine-induced alterations of the brain as potential neural biomarkers in post-traumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, vol. 91, pp. 103–112. PMID: 29932946. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2018.06.008 (In English)
- Mathiak, G., Grass, G., Herzmann, T. et al. (2000) Caspase-1-inhibitor ac-YVAD-cmk reduces LPS-lethality in rats without affecting haematology or cytokine responses. *British Journal of Pharmacology*, vol. 131, no. 3, pp. 383–386. PMID: 11015286. DOI: 10.1038/sj.bjp.0703629 (In English)
- Müller, N. (2017) Immunological aspects of the treatment of depression and schizophrenia. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, vol. 19, no. 1, pp. 55–63. PMID: 28566947. (In English)
- Probert, L. (2015) TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*, vol. 302, pp. 2–22. PMID: 26117714. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.038 (In English)
- Roelfsema, V., Thomas, G. B., Lin, H. et al. (2001) The metabolic effects of endotoxin are differentially affected by the pattern of GH administration in the rat. *Journal of Endocrinology*, vol. 171, no. 1, pp. 173–181. PMID: 11572801. DOI: 10.1677/joe.0.1710173 (In English)
- Rudiger, A., Stotz, M., Singer, M. (2008) Cellular processes in sepsis. *Swiss Medical Weekly*, vol. 138, no. 43–44, pp. 629–634. PMID: 19005868. (In English)
- Schläpfer, M., Piegeler, T., Dull, R. O. et al. (2015) Propofol increases morbidity and mortality in a rat model of sepsis. *Critical Care*, vol. 19, article 45. PMID: 25887642. DOI: 10.1186/s13054-015-0751-x (In English)
- Short, A., Wong, A. K., Finch, A. M. et al. (1999) Effects of a new C5a receptor antagonist on C5a- and endotoxin-induced neutropenia in the rat. *British Journal of Pharmacology*, vol. 126, no. 3, pp. 551–554. PMID: 10188960. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702338 (In English)
- Stahl, O., Löffler, B., Haier, J. et al. (2013) Mimicry of human sepsis in a rat model — prospects and limitation. *Journal of Surgical Research*, vol. 179, no. 1, pp. e167–e175. PMID: 22482762. DOI: 10.1016/j.jss.2012.01.042 (In English)

- Steven, S., Dib, M., Roohani, S. et al. (2017) Time response of oxidative/nitrosative stress and inflammation in LPS-induced endotoxemia — a comparative study of mice and rats. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 10, article 2176. PMID: 29057830. DOI: 10.3390/ijms18102176 (In English)
- Wagner, J. G. Roth, R. A. (1999) Neutrophil migration during endotoxemia. *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 66, no. 1, pp. 10–24. PMID: 10410985. DOI: 10.1002/jlb.66.1.10 (In English)
- Wong, K. A., Rodriguez, A. (2008) Plasmodium infection and endotoxemic shock induce the expansion of regulatory dendritic cells. *The Journal of Immunology*, vol. 180, no. 2, pp. 716–726. PMID: 18178809. DOI: 10.4049/jimmunol.180.2.716 (In English)
- Zimmerman, J. J., Ringer, T. V. (1992) Inflammatory host responses in sepsis. *Progress in Pediatric Critical Care*, vol. 8, no. 1, pp. 163–189. DOI: 10.1016/S0749-0704(18)30273-2 (In English)

References

- Altenburg, S. P., Martins, M. A., Silva, A. R. et al. (1997) LPS-induced blood neutrophilia is inhibited by alpha 1-adrenoceptor antagonists: A role for catecholamines. *The Journal of Leukocyte Biology*, vol. 61, no. 6, pp. 689–694. PMID: 9201259. DOI: 10.1002/jlb.61.6.689 (In English)
- Beck-Schimmer, B., Baumann, L., Restin, T. et al. (2017) Sevoflurane attenuates systemic inflammation compared with propofol, but does not modulate neuro-inflammation: A laboratory rat study. *European Journal of Anaesthesiology*, vol. 34, no. 11, pp. 764–775. PMID: 28759530. DOI: 10.1097/EJA.0000000000000668 (In English)
- Benveniste, E. N. (1998) Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine & Growth Factors Reviews*, vol. 9, no. 3–4, pp. 259–275. PMID: 9918124. DOI: 10.1016/S1359-6101(98)00015-X (In English)
- Black, P. H. (1994) Immune system-central nervous system interactions: Effect and immunomodulatory consequences of immune system mediators on the brain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 38, no. 1, pp. 7–12. PMID: 8141583. DOI: 10.1128/AAC.38.1.7 (In English)
- Bone, R. C. (1996) Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Critical Care Medicine*, vol. 24, no. 1, pp. 163–172. PMID: 8565523. DOI: 10.1097/00003246-199601000-00026 (In English)
- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B. et al. (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, vol. 101, no. 6, pp. 1644–1655. PMID: 1303622. DOI: 10.1378/chest.101.6.1644 (In English)
- Cao, C., Matsumura, K., Yamagata, K., Watanabe, Y. (1997) Involvement of cyclooxygenase-2 in LPS-induced fever and regulation of its mRNA by LPS in the rat brain. *American Journal of Physiology*, vol. 272, no. 6, pt. 2, pp. R1712–R1725. PMID: 9227582. DOI: 10.1152/ajpregu.1997.272.6.R1712 (In English)
- Castro-Faria-Neto, H. C., Penido, C. M., Larangeira, A. P. et al. (1997) A role for lymphocytes and cytokines on the eosinophil migration induced by LPS. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 92, suppl. II, pp. 197–200. PMID: 9698933. DOI: 10.1590/s0074-02761997000800026 (In English)
- Chereshnev, V. A., Gusev, E. Yu. (2002) Sistemnoe vospalenie kak immunopatobiologicheskij fenomen [Systemic inflammation as an immunopathobiological phenomenon]. *Tsitokiny i vospalenie — Cytokines and inflammation*, vol. 1, no. 2, p. 17. (In Russian)
- Chereshnev, V. A., Shilov, M. I., Chereshneva M. V., et al. (2011) *Ekspierimental'nye modeli v patologii [Experimental models in pathology]*. Perm: Perm State University Publ., 267 p. (In Russian)
- Feuerstein, G., Hallenbeck, J. M., Vanatta, B. et al (1990) Effect of gram-negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF alpha, circulating blood cells, and the survival of rats. *Circulatory Shock*, vol. 30, no. 3, pp. 265–78. PMID: 2178800. (In English)
- Galkin, A. A., Demidova, V. S. (2015) Nejtrofilij i sindrom sistemnogo vospalitel'nogo otveta [Neutrophils and systemic inflammatory response syndrome]. *Rany i ranevye infekcii. Zhurnal imeni prof. B. M. Kostyuchenka — Wounds and Wound Infections. The Prof. B. M. Kostyuchenok Journal*, vol. 2, no. 2, pp. 25–31. (In Russian)
- Garami, A., Steiner, A. A., Romanovsky, A. A. (2018) Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 157, pp. 565–597. PMID: 30459026. DOI: 10.1016/B978-0-444-64074-1.00034-3 (In English)
- Gelfand, B. R., Saltanov, A. I. (ed.) (2009) *Intensivnaya terapiya: natsional'noe rukovodstvo [Intensive care: A national manual]*: In 2 vols. Vol. 1. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 955 p. (In Russian)
- Herzum, I., Renz, H. (2008) Inflammatory markers in SIRS, sepsis and septic shock. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 15, no. 6, pp. 581–587. PMID: 18336272. DOI: 10.2174/092986708783769704 (In English)
- Kao, S. J., Wang, D., Lin, H. I., Chen, H. I. (2006) N-acetylcysteine abrogates acute lung injury induced by endotoxin. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 33, no. 1–2, pp. 33–40. PMID: 16445696. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2006.04320.x (In English)
- Kazerani, H. R., Furman, B. L. (2006) Comparison of urethane/chloralose and pentobarbitone anaesthesia for examining effects of bacterial lipopolysaccharide in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, vol. 20, no. 4, pp. 379–384. PMID: 16867022. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2006.00413.x (In English)

- Kim, Y. K., Amidfar, M., Won, E. (2019) A review on inflammatory cytokine-induced alterations of the brain as potential neural biomarkers in post-traumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, vol. 91, pp. 103–112. PMID: 29932946. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2018.06.008 (In English)
- Mathiak, G., Grass, G., Herzmann, T. et al. (2000) Caspase-1-inhibitor ac-YVAD-cmk reduces LPS-lethality in rats without affecting haematology or cytokine responses. *British Journal of Pharmacology*, vol. 131, no. 3, pp. 383–386. PMID: 11015286. DOI: 10.1038/sj.bjp.0703629 (In English)
- Mezhirova, N. M., Danilova V. V., Ovcharenko, S. S. (2011) Patofiziologicheskie i diagnosticheskie aspekty sindroma sistemnogo vospalitel'nogo otveta [Pathophysiological and diagnostic aspects of the systemic inflammatory response syndrome]. *Meditsina neotlozhnykh sostoyanij — Emergency Medicine*, no. 1–2, pp. 34–40. (In Russian)
- Müller, N. (2017) Immunological aspects of the treatment of depression and schizophrenia. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, vol. 19, no. 1, pp. 55–63. PMID: 28566947. (In English)
- Probert, L. (2015) TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*, vol. 302, pp. 2–22. PMID: 26117714. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.038 (In English)
- Roelfsema, V., Thomas, G. B., Lin, H. et al. (2001) The metabolic effects of endotoxin are differentially affected by the pattern of GH administration in the rat. *Journal of Endocrinology*, vol. 171, no. 1, pp. 173–181. PMID: 11572801. DOI: 10.1677/joe.0.1710173 (In English)
- Rudiger, A., Stotz, M., Singer, M. (2008) Cellular processes in sepsis. *Swiss Medical Weekly*, vol. 138, no. 43–44, pp. 629–634. PMID: 19005868. (In English)
- Schläpfer, M., Piegeler, T., Dull, R. O. et al. (2015) Propofol increases morbidity and mortality in a rat model of sepsis. *Critical Care*, vol. 19, article 45. PMID: 25887642. DOI: 10.1186/s13054-015-0751-x (In English)
- Short, A., Wong, A. K., Finch, A. M. et al. (1999) Effects of a new C5a receptor antagonist on C5a- and endotoxin-induced neutropenia in the rat. *British Journal of Pharmacology*, vol. 126, no. 3, pp. 551–554. PMID: 10188960. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702338 (In English)
- Simbirtsev, A. S., Totolyan, A. A. (2015) Tsitokiny v laboratornoj diagnostike [Cytokines in laboratory diagnostics]. *Infektsionnye bolezni — Infectious Diseases*, no. 2, pp. 82–98. (In Russian)
- Stahl, O., Löffler, B., Haier, J. et al. (2013) Mimicry of human sepsis in a rat model — prospects and limitation. *Journal of Surgical Research*, vol. 179, no. 1, pp. e167–e175. PMID: 22482762. DOI: 10.1016/j.jss.2012.01.042 (In English)
- Steven, S., Dib, M., Roohani, S. et al. (2017) Time response of oxidative/nitrosative stress and inflammation in LPS-induced endotoxemia — a comparative study of mice and rats. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 10, article 2176. PMID: 29057830. DOI: 10.3390/ijms18102176 (In English)
- Tumanova, T. S., Aleksandrov, V. G. (2016) Vliyanie bakterial'nogo lipopolisakharida na reflektornye mekhanizmy kardiorespiratornoj sistemy anestezirovannoj krysy [The effect of bacterial lipopolysaccharide on the reflex mechanisms of the cardiorespiratory system of anesthetized rat]. In: A. I. Grigor'ev, Yu. V. Natochin, R. I. Sepiashvili et al. (eds.). *Nauchnye trudy V Sezda fiziologov SNG, V Sezda biokhimikov Rossii, Konferentsii ADFLIM. [Academic Works of V Congress of CIS physiologists, V Congress of Biochemists of Russia, ADFLIM conference]*. Sochi: s. n., p. 158. (*Acta Naturae*. Special issue, vol. 1). (In Russian)
- Wagner, J. G. Roth, R. A. (1999) Neutrophil migration during endotoxemia. *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 66, no. 1, pp. 10–24. PMID: 10410985. DOI: 10.1002/jlb.66.1.10 (In English)
- Wong, K. A., Rodriguez, A. (2008) Plasmodium infection and endotoxic shock induce the expansion of regulatory dendritic cells. *The Journal of Immunology*, vol. 180, no. 2, pp. 716–726. PMID: 18178809. DOI: 10.4049/jimmunol.180.2.716 (In English)
- Zimmerman, J. J., Ringer, T. V. (1992) Inflammatory host responses in sepsis. *Progress in Pediatric Critical Care*, vol. 8, no. 1, pp. 163–189. DOI: 10.1016/S0749-0704(18)30273-2 (In English)