



УДК 591.121.1
ББК 28.6

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА НА ЭЛАСТИЧНОСТЬ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ: МОДЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Фролов Дмитрий Михайлович

Аспирант кафедры биоинженерии и биоинформатики
Волгоградского государственного университета
frolov.volsu@gmail.com
Проспект Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация

Аннотация. С целью определения механических свойств легочной ткани в экспериментальной модели острого легочного повреждения в опытах на 17 белых крысах проводили однократные ингаляции липополисахарида *E. coli* O128 : B12 в виде микроаэрозоля для лучшего проникновения в респираторный аппарат легких. Проанализировали динамику растяжимости легочной ткани в норме и после ингаляции водно-солевого носителя как апиrogenного, так и с дисперсией ЛПС. Было установлено, что ингаляция ЛПС сопровождается снижением эластичности легочной ткани.

Ключевые слова: липополисахарид, ингаляционное поступление, легкие, механотрансдукция.

Введение

Бактериальные липополисахариды (далее – ЛПС), входящие в состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий, обладают широким спектром биологических эффектов. Сенсибилизация иммунной системы и активация ее клеточного звена, в результате поступления ЛПС в организм, оказывает системный эффект на внутренние органы, в том числе и на легкие.

Эффекты неингаляционного поступления ЛПС в организм хорошо изучены, и ученые имеют достаточно полную картину о механизмах ЛПС-индуцированного ответа опосредованного цитокинами, хемокинами и гормонами [2; 3]. В литературе есть работы по созданию математической модели, описывающей события на системном уровне после такого поступления ЛПС в организм [1].

Последствия ингаляционного поступления ЛПС в организм изучены в наименьшей степени. Специфика повреждения легких обус-

ловлена относительно большой площадью альвеолярной поверхности, их структурно-функциональными особенностями, значительными объемами транзита атмосферного воздуха и крови. При этом, некоторые представители клеточного ряда аэрогематического барьера имеют рецепторы к ЛПС (CD14, TLR4) и секретируют биологически активные вещества в ответ на контакт с ним [6; 14].

В последнее время исследователи все чаще обращают внимание на феномен повреждения легочной ткани ЛПС, способный образовывать микроаэрозольные дисперсии в воздушной среде. Такое ингаляционное повреждение может иметь острый характер, или становиться основой хронической легочной патологии [4; 6; 11].

Выявлена взаимосвязь между хронической ингаляцией бактериальных токсинов и развитием легочной патологии у работников определенных профессий, таких как заготовщики сена, работники мясокомбинатов, парнико-

вых хозяйств и ряда подобных предприятий [9; 10]. Причем ингаляция ЛПС возможна не только за счет поступления его из атмосферы (включая нестерильные воздушноносные контуры), но и при массовой гибели микроорганизмов в верхних дыхательных путях или ротовой полости [9]. Особого внимания эта проблема заслуживает при искусственной вентиляции легких, когда возможно сочетание механического и инфекционного повреждения органа [8]. Эксперименты Робертсона (1989) показали, что ИВЛ создает избыточное давление, повреждающее бронхиальный и альвеолярный эпителий. И, в результате, повышается проницаемость их клеточной мембраны к белкам микроциркуляторного русла, инактивирующие сурфактант.

Ингаляция малых доз бактериального ЛПС приводит к повреждению легких по типу субхронического бронхоальвеолита, сопровождающимся слущиванием бронхиального эпителия и альвеолоцитов, реакцией альвеолярных и бронхиальных макрофагов, снижением воздушности легочной ткани при умеренно выраженной бронхиальной экссудации [4; 7; 12]. Лейкоциты и слущенный эпителий попадают и в альвеолярный экссудат, в связи с чем могут быть выявлены в бронхоальвеолярных смывах (БАС) [5].

В остром процессе доминирует цитокин-зависимое повреждение эндотелия и эпителиальной выстилки межальвеолярных перегородок, повышение сосудистой проницаемости и накопление экссудата, в том числе и полиморфно-ядерных лейкоцитов в альвеолярных пространствах [13].

Функция легких неразрывно связана с механическими свойствами ткани органа. Процесс дыхания представляет собой динамический цикл растяжения клеток и сурфактанта вместе с конвекцией жидкости из дыхательных путей в сосудистую сеть. И нарушения, связанные с сокращением гладкой мускулатуры дыхательных путей или со свойствами сурфактанта, изменяют респираторную механику и влияют на функцию легких в целом.

Острый воспалительный процесс сопровождается локальной инфильтрацией ткани и клеточными компонентами, что увеличивает ее жесткость и уменьшает растяжимость

ткани. Кроме того, хорошо известно, что биологические модуляторы, такие как бактериальный ЛПС или цитокины, увеличивают жесткость легочной ткани, а у клеток, наоборот растяжимость, хотя роль макрофагов в определении функции легочной механики до конца не ясна.

Таким образом, изучение механических свойств легких представляет собой одну из главных задач в понимании легочной биологии и процесса дыхания в целом.

Цель работы – выявить изменения растяжимости легочной ткани в модели однократного ингаляционного поступления ультрадисперсного аэрозоля ЛПС.

Материалы и методы

Эксперимент проводили на 17 белых крысах породы Вистар массой от 220 до 280 г в соответствии этическими нормами, изложенными в «Международном кодексе медицинской этики» (1994), Хельсинской декларации (2000) и Директивах Европейского сообщества 86/609ЕЕС. Животных разделили на три группы: 12 животных вошли в опытную и контрольную группы, по 6 в каждой, и 5 – в интактную. Ингаляцию проводили в затравочной камере объемом 100 л в течение часа. Крысы в опытной группе дышали смесью воздуха с водно-солевым аэрозолем ЛПС *Escherichia coli* O128 : B12 (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA). Микроаэрозольные капли со средним диаметром 4 мкм, содержащие ЛПС, получали с помощью компрессорного ингалятора CN-231 (A&D, Japan). Частицы такого размера способны свободно проникать не только в верхние дыхательные пути, но и в альвеолярный аппарат легких крысы в процессе спонтанного дыхания. Условия опыта были подобраны так, что за время нахождения в камере каждое животное инспирировало ЛПС в дозе порядка 1 мг/кг массы. Животных контрольной группы ингалировали 0,85 %-ным раствором NaCl без ЛПС. Животных вывели из эксперимента через 3 часа после ингаляции передозировкой Золетила (120 мг/кг массы). Крысы интактной группы находились в обычных условиях вивария без каких-либо воздействий и были выведены из эксперимента в тот же срок.

Механические свойства легких определяли с помощью экспериментальной установ-

ки, состоящей из прямого ртутного манометра для определения давления, шприца объемом 20 мл, и зонда для закрепления легкого (рис. 1). Шприцом подавалась порция воздуха, при этом фиксировалось изменение давления в органе и вытесненный легкими объем 0,85 %-го раствора NaCl. Подачу воздуха осуществляли парциально, первая порция соответствовала значению давления при подаче 1 мл воздуха, вторая – 2 мл, третья – 3 мл и крайняя точка определялась значением подаваемого объема воздуха, при котором происходил разрыв легочной ткани. Далее строили общий график зависимости DV/ДР по 24-м точкам. Для каждого графика строили функцию экстраполяции зависимости эластических свойств легочной ткани.

Результаты и их обсуждение

Эластические свойства легких обуславливаются преимущественно механическими возможностями паренхимы легкого. Растяжимость легочной ткани является величиной, противоположной упругости. Упругость легочной ткани $E_{лт}$ определяли с помощью установки, состоящей из поршня для подачи воздуха, прямого ртутного манометра для определения изменения давления в легком и градуированной емкости с 0,85%-ным раствором NaCl для определения вытесненного объема. Воздух подавался до предела разрыва легочной ткани. Упругость легочной ткани определялась как сопротивление к растяжению при приложенной силе и измеря-

лась по существующим в физической механике закономерностям.

Формулу упругости легочной ткани вывели, исходя из формулы модуля Юнга:

$$E_{лт} = \frac{Fl}{Sx} = \frac{\Delta PV_0}{\Delta V}$$

Если значение упругости ткани легкого зависит от давления, то:

$$\frac{\Delta V}{V_0} = \frac{\Delta P}{E_{\Delta P}}$$

Таким образом, описание поведения функции $E_{(ДР)}$ дает возможность определить свойство ткани, на которую оказывается давление. Линейный характер функции отражает упругие свойства легочной ткани, а нелинейный говорит о снижении упругих и увеличении пластических свойств.

Аппроксимированная функция упругости легочной ткани интактных животных – квадратичная и имеет следующий вид:

$$E_{(ДР)} = -0,0683x^2 + 5,2412x - 45,901 (R^2 = 0,96)$$

В интервале от 0 до 24–28 % распределение линейно, при дальнейшей подаче воздуха происходило изменение характера функции, и она демонстрировала уже нелинейную зависимость. Несомненно, это связано с переходом упругих свойств легочной ткани в пластические, так как при увеличении легких на 45–56 % от их начального объема происходил их разрыв.

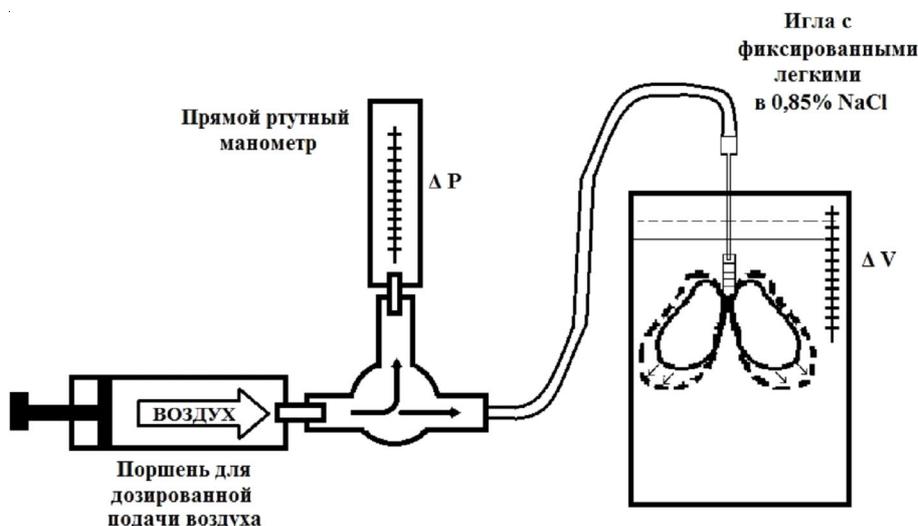


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для определения механических свойств легких крысы.

Функция зависимости $E_{(ДР)}$ для контрольных животных схожа с таковой у животных интактной группы:

$$E_{(ДР)} = -0,0986x^2 + 6,7022x + 57,914 \quad (R^2 = 0,96)$$

Функция зависимости прироста объема от прироста давления в легких животных, ингалированных микроаэрозольной дисперсией ЛПС, также нелинейна:

$$E_{(ДР)} = 0,0829x^2 - 3,4174x + 33,443 \quad (R^2 = 0,96)$$

Таким образом, при однократной ингаляции ЛПС происходит изменение эластичности легочной ткани. Ингаляция ЛПС сопровождается снижением эластичности легочной ткани (снижение основного коэффициента в уравнении зависимости $p-V$ с 6,71 до 3,41), так что прирост давления сопровождается менее значимым изменением объема легочной ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горячев, А. Н. Математическое моделирование компонента тиреоидной дисрегуляции при хроническом эндотоксикозе / А. Н. Горячев // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. 15. – №3. – С. 167–168.
2. Калашникова, С. А. Тиреоидная модуляция ФНО-зависимого апоптоза и формирование хронической патологии печени при эндогенной интоксикации у крыс / С. А. Калашникова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147. – №2. – С. 201–206.
3. Писарев, В. Б. Бактериальный эндотоксикоз: взгляд патолога. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2008. – 320 с.
4. Фролов, Д. М. Структурные изменения в легких при аэрозольном поступлении в организм липополисахарида, диспергированного в гидрофобной и водной фазе / Д. М. Фролов // Фундаментальные исследования. – 2012. – №10 (2) – С. 345–348.
5. Фролов, Д. М. Индикация повреждения межальвеолярных перегородок при аэрозольном поступлении в организм бактериального липополисахарида / Д. М. Фролов // Врач-аспирант. – 2013. – №5.2 (60). – С. 327–332.
6. Abate, W. Surfactant lipids regulate LPS-induced interleukin-8 production in A549 lung epithelial cells by inhibiting translocation of TLR4 into lipid raft domains / W. Abate // J. Lipid Res. – 2010. – №51 (2). – P. 334–344.
7. Brass, D. M. Chronic LPS inhalation causes emphysema-like changes in mouse lung that are associated with apoptosis / D. M. Brass // Am. J. Respir Cell Mol. Biol. – 2008. – № 39 (5). – P. 584–590.
8. Dahlem, P. Mechanical ventilation affects alveolar fibrinolysis in LPS induced lung injury / P. Dahlem // Eur. Respir. J. – 2006. – №28. – P. 992–998.
9. Duquenne, P. Measurement of endotoxins in bioaerosols at workplace: a critical review of literature and a standardization issue / P. Duquenne // Ann. Occup. Hyg. – 2013. – № 57 (2). – P. 137–172.
10. Haldal, K. K. Pneumoproteins in sewage workers exposed to sewage dust // Int. Arch. Occup. Environ. Health. – 2013. – № 86 (1). – P. 65–70.
11. Hernandez, M. L. Comparative airway inflammatory response of normal volunteers to ozone and lipopolysaccharide challenge / M. L. Hernandez // Inhal. Toxicol. – 2010. – № 22 (8). P. – 648–656.
12. Liebers, V. Health effects due to endotoxin inhalation / V. Liebers // Arch. Toxicol. 2008. – № 82 (4). – P. 203–210.
13. Mammoto, A. Control of lung vascular permeability and endotoxin-induced pulmonary oedema by changes in extracellular matrix mechanics / A. Mammoto // Nat. Commun. – 2013. – Vol. 4. – e1759.
14. Miller, W. Differential inflammatory response to inhaled lipopolysaccharide targeted either to the airways or the alveoli in man / W Miller, I. Heimbeck, T.P.J. Ho-fer et al. // PLOS One. – 2012. – Vol. 7 (4). – e33505.

**BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDE INFLUENCE
ON ELASTIC LUNG TISSUE: MODEL TESTS**

Frolov Dmitriy Michailovich

Postgraduate Student, Bioengineering and Bioinformatics Department,
Volgograd State University
frolov.volsu@gmail.com
Prospect Universitetsky, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation

Abstract. In our research we try to determine the mechanical properties of lung tissue in an experimental model of acute lung injury initialize by mikroaerozol inhalation of single lipopolysaccharide E. coli O128 : B12 in 17 rats. Mikroaerozol need for better penetration of the respiratory apparatus of the lungs. The dynamics of elongation in normal lung tissue and after inhalation of saline solution as a carrier apyrogenic and with a variance of LPS is studied. It is found that inhalation of LPS is accompanied by a decrease in the elasticity of the lung tissue.

Key words: lipopolysaccharide, inhalation, lungs, mechanotransduction.