

Поведенческие реакции крыс при аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа

В.А. Кульчицкий, И.В. Стрижак

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск; vladi@fizio.bas-net.by

Наиболее распространенной моделью системного воспалительного процесса, включающего защитные поведенческие реакции, является внутривенное или внутрибрюшинное введение эндотоксина, в качестве которого часто используют липополисахарид кишечной палочки (ЛПС *Escherichia coli*). Однако к естественным моделям поступления индуктора «системного воспаления» в организм такой методологический подход отнести нельзя, поскольку типичным для человека и животных является проникновение чужеродных агентов (в том числе возбудителей инфекций, эндотоксинов) через слизистые оболочки или поврежденные участки кожи. В связи с этим закономерно возникает вопрос – как изменится контроль защитных реакций организма, а также организация поведения крыс в опытах с моделированием естественного контакта эндотоксинов со слизистыми оболочками и кожными покровами, например, со слизистой оболочкой полости носа? Вопрос отнюдь не праздный, учитывая сумятицу в среде специалистов по кишечным инфекциям после обнаружения нового высокопатогенного штамма кишечной палочки, который явился причиной гибели людей в одной из самых развитых стран Европы.

Опыты проводили на белых крысах-самцах линии Вистар ($n=92$) массой 0,22-0,25 кг. После предварительной адаптации животных в течение 7 сут к экспериментальным условиям (ежедневное наблюдение и хендлинг крыс в виварии, моделирование горизонтальной гипокинезии в боксах, начиная с 20-30 мин фиксации до 4-5 ч, контроль общего состояния животных по приросту массы тела, грумингу,

питьевому поведению и т.п.) осуществляли билатеральную аппликацию 10 мкл эндотоксина *E. coli* в концентрации 1,0; 10,0; 100,0; 1000 мкг/мл на слизистую оболочку полости носа. Для регистрации глубокой температуры тела животных помещали в боксы, которые располагали в термостате при 29°C и влажности 50%, после чего через анальное отверстие на глубину 7-9 см в кишечник вводили термодатчик (электротермометр, «Physitemp», США). Колониальную температуру регистрировали в течение часа до начала экспериментального исследования и на протяжении 5 ч после интраназальной аппликации эндотоксина. Латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) регистрировали с помощью метода hot-plate («Stoelting», США). ЛПНР измеряли за 1 ч до аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа и через 1, 2, 4 и 5 ч после интраназального введения ЛПС *E. coli*. Поведенческую активность крыс изучали в приподнятом крестообразном лабиринте при помощи видеокамеры и компьютерной программы «Stoelting» (США). Лабиринт состоит из четырех площадок, размером каждая 50x10 см, соединенных в виде креста перпендикулярно друг к другу. В центре располагается квадратная площадка 10x10 см. Две площадки, расположенные напротив друг друга, открыты, две другие с трех сторон (кроме торцевой стороны, обращенной к центру) огорожены стенками высотой 30 см. За 1 ч до проведения исследования крыс помещали в клетки, расположенные в экспериментальной комнате, с целью максимальной адаптации к условиям проведения опыта. Изучая

поведение крыс, в течение пяти минут для каждого экспериментального животного регистрировали ряд показателей: количество посещений и время пребывания в открытом, закрытом пространстве и центральном секторе; число эпизодов замираний и их продолжительность, общую пройденную дистанцию, общее время двигательной активности, время неподвижного состояния, среднюю скорость перемещения.

Статистическую обработку результатов проводили методом парных сравнений с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни ($P \leq 0,05$). Данные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего.

После интраназальной аппликации 10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора у 57,1% экспериментальных животных глубокая температура тела оставалась стабильной. У 42,9% крыс зафиксирована первая фаза подъема глубокой температуры тела на $0,53^\circ\text{C} \pm 0,07^\circ\text{C}$, свидетельствующая о развитии лихорадки. У 28,6% крыс второй подъем колонической температуры тела на $0,6 \pm 0,1^\circ\text{C}$ наблюдался через 2 ч, что является признаком развития двухфазного лихорадочного ответа. У 14,3% крыс подъем глубокой температуры тела носил монофазный характер. Исходная колоническая температура животных составила $38,1^\circ\text{C} \pm 0,07^\circ\text{C}$.

Исходная ЛПНР крыс составила $74,9 \text{ с} \pm 12,3 \text{ с}$. Через 1 ч после интраназального введения 10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора ЛПНР снизилась на 27,8%. Через 2 и 4 ч после введения ЛПС ЛПНР сохранялась сниженной на 20–30%, а через 5 ч – увеличилась на 15%.

При изучении двигательной активности крыс через 1 ч после аппликации эндотоксина (10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора) на слизистую оболочку полости носа, выявлено увеличение общей пройденной дистанции в 1,4 раза, средней скорости перемещения – в 2 раза, общей двигательной активности – в 1,3 раза по сравнению с показателями крыс, которым прово-

дили имитацию аппликации ЛПС *E. coli*. Общее время неподвижного состояния при этом снизилось в 1,2 раза. При оценке количества посещений, времени пребывания, пройденной дистанции в открытых, закрытых площадках и центральном секторе получены следующие результаты. Через 1 ч после интраназальной аппликации 10 мкг ЛПС *E. coli* в 10 мкл раствора количество посещений открытых площадок и время, проведенное в них, увеличилось в 3,6 и 2,5 раза соответственно. Аналогичная тенденция наблюдалась также в центральном секторе. А именно, количество посещений данной зоны увеличилось в два раза, как и время, проведенное в данной области приподнятого крестообразного лабиринта. Дистанция, пройденная в открытых площадках и центральном секторе, также увеличилась в 4,7 и 1,8 раза соответственно. Через 2 ч после интраназальной аппликации эндотоксина наблюдалось увеличение общего количества и времени эпизодов замираний в 23,6 и 53,8 раза соответственно. При этом замиранья преимущественно происходили в дистальных частях закрытых площадок. Так, количество эпизодов замираний в данных областях приподнятого крестообразного лабиринта увеличилось 19,3 раза. А время замираний – в 47,3 раза.

Зафиксированный паттерн защитных реакций у экспериментальных животных после аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа аналогичен таковому у человека при инициации заболевания вирусной или бактериальной природы (в начальный период развития защитного ответа по типу «fight» “ «борьба», а в последующем по типу «flight» “ «избегание»). Полагаем, что характерный паттерн поведенческой активности животных при аппликации ЛПС на слизистую оболочку носа может быть эффективной и удобной моделью для анализа механизмов системного воспалительного ответа, а также для апробации новых противовоспалительных препаратов.