

Кондашевская М. В., Диатроптов М. Е., Пономаренко Е. А., Ельчанинов А. В.

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА

Научно-исследовательский институт морфологии человека, г. Москва, Россия

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) — тяжелое психическое состояние, которое возникает в результате единичной или повторяющихся психотравмирующих ситуаций. Кроме психопатологических проявлений, ПТСР чрезвычайно часто сопровождается вегетативной дисфункцией и соматическими заболеваниями. В связи с невозможностью проведения многих исследований на людях, разработаны модели и методы исследования на животных, в основном на лабораторных грызунах. Наиболее часто исследователи используют модель страха жертвы перед хищником [2]. Общеизвестно, что печень характеризуется высокой чувствительностью к стрессорным воздействиям различной природы. Однако в доступной литературе имеется мало сведений о морфофункциональном состоянии печени при ПТСР.

Целью данного исследования было изучение морфофункционального состояния печени при моделировании посттравматического стрессового расстройства у половозрелых самцов крыс Вистар.

Материал и методы. Исследование выполнено в осенне-зимний период на 20 половозрелых самцах крыс Вистар (питомник Столбовая), содержащихся в отдельных клетках по 10 особей. Все экспериментальные процедуры проводи-

ли в соответствии с регламентом декларации ЕС от 2010 г. об использовании лабораторных животных.

ПТСР моделировали, помещая крыс в условия неизбежного воздействия запаха хищника (кошачьей мочи) в течение 10 мин, 10 сут и последующего содержания в обычных условиях в течение 14 сут. Контролем служили животные, не подвергавшиеся стрессу. Для выявления поведенческих признаков ПТСР, крыс тестировали в «крестообразном приподнятом лабиринте» (КПЛ). Индивидуальное поведение животных изучали в течение 10 мин, помещая крысу на свободный конец открытого рукава. Для регистрации поведенческих и психоэмоциональных реакций использовали видеозапись и компьютерную программу Labyrinth (авторы К. А. Никольская, А. И. Осипов, 1995). В конце эксперимента высчитывали индекс тревожности (ИТ), определяемый по формуле J. R. Hoffman и соавт. [3]:

$$\text{ИТ} = 1 - \left[\frac{\left(\frac{\text{время в открытых рукавах}}{\text{общее время в КПЛ}} \right) + \left(\frac{\text{число заходов в открытые рукава}}{\text{общее число заходов за опыт}} \right)}{2} \right]$$

В конце эксперимента кусочки печени фиксировали в 10 % забуференном формалине, готовили срезы толщиной 7 мкм на микротоме-криостате (Thermo scientific microm YM 525) для дальнейшей окраски Суданом III с целью выявления жировых включений. Для выявления популяции макрофагов в печени применяли иммуногистохимический метод с использованием вторых антител, конъюгированных с флуоресцентной меткой — маркеры макрофагов CD 68 (Abscam, Англия). При помощи морфометрической программы «AxioVision» на микрофотографиях срезов печени, полученных с помощью микроскопа «Axio-plan 2 imaging», производили измерение структур с помощью программы Image-Pro Plus 6.0. В сыворотке крови оценивали уровень кортикостерона, используя иммуноферментные наборы «IBL» (Германия); активность печеночных ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) спектрофотометрическим методом с помощью стандартных наборов реагентов фирмы «HUMAN» (Германия). В работе принимали участие старший лаборант-исследователь С. А. Кузикянц и лаборант-исследователь Т. А. Ткаченко.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программного обеспечения Statistica 8.0. Сравнение экспериментальных групп производили при помощи t-критерия Стьюдента, U-критерия Манна–Уитни, использовали показатель λ Колмогорова–Смирнова. Результаты выражали в виде доверительных интервалов для среднего значения ($M \pm \text{ДИ}$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Основываясь на интегративном показателе индекса тревожности (ИТ), было отмечено, что при ПТСР у 60 % крыс наблюдалось достоверно значимое повышение этого показателя (от 0,81 до 0,96) по сравнению с группой контроля (от 0,52 до 0,72). Кроме того, у 60 % крыс при ПТСР выявлено в 1,2–3,0 раза большее число замираний в КПЛ, чем у контрольных животных ($p < 0,05$). У этих же особей зарегистрировано снижение в сыворотке крови уровня кортикостерона в 2,9–4,2 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Функциональные нарушения печени стрессированных крыс проявлялись увеличением активности АСТ, АЛТ и ГГТ в 1,3–1,4 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При микроскопическом исследовании печени были выявлены морфофункциональные изменения, которые варьировали у разных особей по степени выраженности. Эти изменения характеризовались очагами воспалительной инфильтрации ткани паренхимы клетками преимущественно лимфоцитарного ряда, деструктивными изменениями в клетках функциональной паренхимы. Последние проявлялись мелко- и среднекапельной жировой дистрофией, поражавшей 30–50 % клеток функциональной паренхимы в поле зрения ($p < 0,05$). При морфометрическом анализе срезов печени, окрашенных иммуногистохимическим методом анти-CD68 антителами, достоверно значимых различий по числу макрофагов между опытной и контрольной группами не выявлено.

Выводы. В данном эксперименте, судя по поведенческим реакциям, состояние ПТСР проявлялось у 60 % опытных крыс [3]. Как известно, у людей, перенесших стресс, ПТСР развивается только у 20–40 %, однако значительная генетическая и гендерная однородность, а также однотипность среды обитания лабораторных грызунов предполагает формирование ПТСР у большего процента особей в популяции. В связи с этим Н. Cohen и соавт. (2014) ввели, кроме общеизвестных поведенческих критериев ПТСР, показатель «распространенности» заболевания в популяции [2], составляющий в нашем случае 60 %.

Следует отметить, что при ПТСР многие исследователи выявляют повышение уровня сывороточного кортикостерона [2, 4], тогда как О. Б. Цейликман и соавт. [1], так же как и мы, отметили снижение концентрации этого гормона. Полученные нами данные согласуются с мнением Г. Селье, который установил, что при интенсивной стрессорной реакции происходит нарушение адаптивного отклика ГГН системы, сопровождающегося снижением уровня кортикостерона, а также изменением числа и чувствительности рецепторов к кортикостерону как на периферии, так и в центральной нервной системе.

Стрессорная реакция во многом определяет развитие биохимических и функциональных изменений печени, функционирующей как большой эффекторный орган, играющий стратегическую роль в регуляции метаболизма нутриентов, энергетического статуса, защитного ответа организма и многих других процессах. В нашем эксперименте наблюдалось увеличение в сыворотке крови активности АСТ, АЛТ и ГГТ, что обычно связывают с деструкцией мембранных структур гепатоцитов и их цитолизом, вызванными перекисным окислением липидов. Усиление окислительной модификации белков и жиров в печени может быть причиной обнаруженного нами нарушения метаболизма и транспорта жиров, проявившихся у наших крыс при ПТСР в виде накопления жировых включений в клетках печени, что является фактором риска развития более тяжелого повреждения печени. Известно, что при поражении печени любой этиологии деятельное участие принимают купферовские клетки, число которых значительно увеличивается, запускается их активация. Судя по отсутствию увеличения числа суммарной популяции печеночных макрофагов при ПТСР в нашем эксперименте, деструктивные и воспалительные процессы могут носить обратимый характер. Обнаруженные нами сдвиги в системе липидного обмена печени рас-

ширяют представление о патогенезе ПТСР и могут быть использованы как дополнение в комплексной диагностике при оценке тяжести заболевания, разработке новых методов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цейликман, О. Б. Содержание продуктов липопероксидации в головном мозге у крыс при посттравматическом стрессовом расстройстве / О. Б. Цейликман, М. С. Лапшин, Д. А. Козочкин // Проблемы здравоохранения. 2014. Т. 14, № 2. С. 83–86.

2. Cohen, H. Maintaining the clinical relevance of animal models in translational studies of post-traumatic stress disorder / H. Cohen, M.A. Matar, J. Zohar // ILAR. 2014. Vol. 55, N 2. С. 233–245.

3. β -Alanine supplemented diets enhance behavioral resilience to stress exposure in an animal model of PTSD / J. R. Hoffman [et al.] // Amino Acids. 2015. N 47. P. 1247–1257.

4. Stress and traumatic brain injury : a behavioral, proteomics, and histological study / S. K. Kwon [et al.] // Front. Neurol. 2011. Vol. 2, N 12. P. 1–14.

Kondashevskaya M. V., Diatroptov M. E., Ponomarenko E. A., Elchaninov A. V.

Feature morphofunctional state of the liver in modeling posttraumatic stress disorder

Scientific Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

Posttraumatic stress disorder (PTSD) was reproduced using the model of impact by the predator odor (cat urine) to adult male Wistar rats. Basic symptoms of PTSD, determined by standard behavioral tests, according to the calculated “anxiety index”, developed in 60 % of animals in which a significant reduction in corticosterone levels and increase of the enzyme activities have been reported in the blood serum: alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and γ -glutamyl transferase. Morphofunctional state of the liver in rats with PTSD was characterized by the emergence of small- and medium-drop adipose degeneration and inflammatory infiltration of the parenchyma tissue. The number of macrophages as determined by immunohistochemistry, has not changed. We observed changes in the lipid metabolism of the liver system, expand understanding of the pathogenesis of PTSD and can be used as a supplement in the complex diagnosis when assessing the severity of the disease.

Key words: Wistar rats, posttraumatic stress disorder, corticosterone, fatty hepatosis.