

УДК 616-008.9-021.6:616.233-008.8-076.5
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-29-36>

Особенности цитограммы и цитокинового профиля жидкости бронхоальвеолярного лаважа при экспериментальном метаболическом синдроме

Воронкова О.В., Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Есимова И.Е.,
Григорьева А.В., Осихов И.А., Чернышов Н.А., Мотлохова Е.А.

Сибирский государственный медицинский (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель. Выявить особенности клеточного состава и цитокинового профиля жидкости бронхоальвеолярного лаважа у крыс в модели диет-индуцированного метаболического синдрома.

Материалы и методы. В эксперименте на животных (крысах) воспроизведена модель метаболического синдрома (МС), индуцированного высокожировой и высокоуглеводной диетой. Для оценки состоятельности воспроизведенной модели использованы биохимические и морфометрические методы: измерение массы тела, удельной массы печени и висцерального жира, измерение артериального давления, определение содержания в крови глюкозы (в том числе в глюкозотолерантном тесте (ГТТ)), определение параметров липидного спектра крови. Для оценки интенсивности воспалительного ответа в крови определяли концентрацию общего белка, общее количество лейкоцитов и концентрацию иммуноцитоккинов (интерлейкина (IL)-6, IL-10, фактора некроза опухоли альфа (TNF α), моноцитарного хемотоксического фактора-1 (MCP-1)). Открытым способом на изолированном комплексе «сердце-легкие» выполняли бронхоальвеолярный лаваж. В бронхоальвеолярной жидкости (БАЛЖ) определяли концентрацию белка, иммуноцитоккинов (IL-6, IL-10, TNF α , MCP-1), общее количество лейкоцитов и соотношение их отдельных морфологических форм.

Результаты. У животных с МС выявлено повышение в крови общего количества лейкоцитов за счет гранулоцитарного компонента, увеличение концентрации белка и цитокинов TNF α и IL-10 по сравнению с соответствующими параметрами у крыс контрольной группы. В результате анализа БАЛЖ выявлено повышение концентрации белка, общего количества лейкоцитов, абсолютного числа альвеолярных макрофагов, нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов; более чем в 1,5 раза превышена концентрация IL-6 и MCP-1.

Заключение. Изменения качественных и количественных параметров БАЛЖ носят воспалительный характер и формируются на фоне системного воспалительного ответа, сопровождающего нарушение обмена веществ при моделировании МС у крыс в эксперименте.

Ключевые слова: метаболический синдром, бронхоальвеолярная жидкость, воспаление

Конфликт интересов. Авторы гарантируют отсутствие потенциальных и явных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20039, <https://rscf.ru/project/22-25-20039>, и средств Администрации Томской области.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 8201 от 27.03.2020).

Для цитирования: Воронкова О.В., Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Есимова И.Е., Григорьева А.В., Осихов И.А., Чернышов Н.А., Мотлохова Е.А. Особенности цитограммы и цитокинового профиля жидкости бронхоальвеолярного лаважа при экспериментальном метаболическом синдроме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(4):29–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-29-36>.

Features of the cytogram and cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid in experimental metabolic syndrome

Voronkova O.V., Birulina J.G., Ivanov V.V., Buyko E.E., Esimova I.E., Grigorieva A.V., Osikhov I.A., Chernyshov N.A., Motlokhova E.A.

Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the study was to identify the features of the cellular composition and cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid in rats in a model of diet-induced metabolic syndrome.

Materials and methods. In an experiment on animals (rats), a model of metabolic syndrome (MS) induced by a high-fat and high-carbohydrate diet was reproduced. To assess the viability of the reproduced model, biochemical and morphometric methods were used, such as measurement of body weight, specific gravity of liver and visceral fat, and blood pressure, determination of glucose concentration in the blood (including a glucose tolerance test), as well as determination of blood lipid parameters. To assess the intensity of the inflammatory response in the blood, the concentration of total protein, the total number of leukocytes, and the levels of immunocytokines (interleukin (IL)-6, IL-10, tumor necrosis factor (TNF) α , monocyte chemoattractant protein (MCP)-1) were determined. Open bronchoalveolar lavage was performed on the isolated heart – lung complex. The concentration of protein, immunocytokines (IL-6, IL-10, TNF α , MCP-1), the total number of leukocytes, and the ratio of their morphological types were determined in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF).

Results. In animals with MS, an increase in the total number of leukocytes in the blood due to granulocytes and a rise in the concentration of protein, TNF α , and IL-10 were revealed compared with the parameters in the controls. BALF analysis revealed an increase in the concentration of protein, the total number of leukocytes, and the absolute number of alveolar macrophages, neutrophil granulocytes, and lymphocytes. The levels of IL-6 and MCP-1 were more than 1.5 times higher.

Conclusion. Changes in the qualitative and quantitative parameters of BALF are inflammatory in nature and are formed during a systemic inflammatory response accompanying metabolic disorders in modeling MS in rats in the experiment.

Keywords: metabolic syndrome, bronchoalveolar lavage fluid, inflammation

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-25-20039, <https://rscf.ru/project/22-25-20039>, and funded by the Administration of the Tomsk Region.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 8201 of 27.03.2020).

For citation: Voronkova O.V., Birulina J.G., Ivanov V.V., Buyko E.E., Esimova I.E., Grigorieva A.V., Osikhov I.A., Chernyshov N.A., Motlokhova E.A. Features of the cytogram and cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid in experimental metabolic syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(4):29–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-29-36>.

ВВЕДЕНИЕ

Комплекс нарушений обмена веществ, объединенных рамками метаболического синдрома (МС), ускоряет развитие и прогрессирование ряда заболеваний, включая сердечно-сосудистую и цереброваскулярную патологию, сахарный диабет 2-го типа, болезни почек и желчевыводящих путей, некоторые виды рака [1–3]. В клинической медицине коморбидности одним из обсуждаемых является вопрос о

влиянии компонентов метаболического синдрома на состояние респираторной системы. В ряде клинических наблюдений МС был идентифицирован как независимый фактор риска нарушения функции легких и ухудшения респираторных симптомов при таких многофакторных заболеваниях, как бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких.

Установлено, что наиболее значимыми компонентами МС, способствующими респираторной патологии, являются абдоминальное ожирение, ги-

пергликемия и гиперинсулинемия [4–6]. Наименее изученными остаются ранние механизмы повреждающего действия компонентов МС на бронхолегочную систему. В определенной степени это связано с тем, что большинство исследований носят клинический характер. Поскольку кардиореспираторная система имеет широкие адаптивные возможности, в фокус внимания врачей попадают пациенты с уже выраженными проявлениями дыхательной недостаточности на фоне МС. В связи с этим изучение сложных механизмов влияния метаболических расстройств на морфофункциональное состояние бронхоальвеолярной системы целесообразно проводить в эксперименте с использованием животных моделей.

Получение и исследование бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) являются одним из достоверных методов изучения цитологических, иммунологических, биохимических и микробиологических характеристик бронхоальвеолярных отделов респираторной системы. Исследование БАЛЖ не только оказывает существенную помощь в диагностике и определении активности патологического процесса, но и позволяет глубже раскрыть патогенетические закономерности повреждения легких при основной или сопутствующей патологии [7, 8].

Цель исследования – выявить особенности клеточного состава и цитокинового профиля жидкости бронхоальвеолярного лаважа у крыс в модели diet-индуцированного метаболического синдрома.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 33 самцах крыс аут-бредной линии Вистар (средняя масса $280,5 \pm 36,1$ г, возраст на начало исследования 6 нед), которые были разделены на контрольную (15 животных) и опытную (18 животных) группы. Животные содержались в условиях вивария; исследования выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

На животных опытной группы была воспроизведена модель diet-индуцированного метаболического синдрома – крысы в течение 12 нед содержались на высокожировой и высокоуглеводной диете, включающей стандартный корм (66%) с добавлением животного жира (17%), фруктозы (17%), холестерина (0,25%) с заменой питьевой воды на 20%-й раствор фруктозы (общая калорийность суточного рациона 440 ккал/100 г). Крысы контрольной группы находились на стандартной диете (корм «Дельта Фидс», Биопро, Россия, общая калорийность 300 ккал/100 г, соотношение белки : жиры : углеводы составило 24 : 6 : 44) со свободным доступом к пище и воде.

Для оценки состоятельности воспроизведенной модели метаболического синдрома в начале и в конце эксперимента у животных измеряли массу тела и артериальное давление (Систола, Нейроботикс, Россия). На последней неделе эксперимента проводили ГТТ – крысам натошак (лишение корма на 12 ч) внутрижелудочно вводили раствор глюкозы в дозе 2 г/кг (D-глюкоза, Sigma-Aldrich, США). Через 0, 15, 30, 60, 90 и 120 мин в крови определяли концентрацию глюкозы ферментативным колориметрическим методом с использованием набора реагентов (Chronolab, Испания). Через 12 нед после начала эксперимента животных подвергали эвтаназии методом CO_2 -асфиксии, отбирали кровь из сердца для оценки гематологических показателей (вакутейнер с $\text{K}_2\text{ЭДТА}$) и получения сыворотки крови (вакутейнер с активатором свертывания). Гематологические показатели оценивали на автоматическом анализаторе BC-2800 Vet (Mindray, Китай). В сыворотке крови определяли биохимические параметры, включая показатели липидного спектра (на автоматическом биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbot, США), а также концентрацию иммуноцитокининтерлейкина (IL) -6, IL-10, фактора некроза опухоли альфа (TNF α), моноцитарного хемотоксического фактора-1 (MCP-1) методом иммуноферментного анализа (наборы Bender MedSystems GmbH, Австрия). Методом диссекции выделяли печень и висцеральную жировую ткань (мезентериальную, эпидидимальную и забрюшинную жировую клетчатку), взвешивали на аналитических весах и рассчитывали их удельную массу.

Открытым способом на изолированном комплексе «сердце–легкие» выполняли бронхоальвеолярный лаваж. В качестве жидкости для промывания легких использовали холодный изотонический физиологический раствор [9]. Производили 2–3 промывки обеих легких шприцем с усеченной канюлей через трахею. Исходный объем омывающей жидкости для однократного введения составил 3 мл, объем возврата – не менее 2 мл. В лаважной жидкости определяли концентрацию белка спектрофотометрически BCA-методом (BCA Protein Assay Kit, Sigma-Aldrich) и цитокинов IL-6, IL-10, TNF α , MCP-1 методом иммуноферментного анализа (наборы Bender MedSystems GmbH, Австрия).

При цитологическом исследовании БАЛЖ определяли общее количество лейкоцитов и соотношение их отдельных морфологических форм. С этой целью БАЛЖ центрифугировали, клеточный осадок наносили на предметное стекло, фиксировали в парах формалина и окрашивали по методу Романовского – Гимзы. Подсчет клеточных элементов проводили на

200 клеток при микроскопии препаратов с использованием иммерсионного объектива.

Статистическую обработку данных проводили в программе SPSS Statistics 23. Данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения (тест Шапиро – Уилка), представляли в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$), не подчиняющиеся – медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Анализ различий между выборками выполняли при помощи t -критерия Стьюдента или U -критерия Манна – Уитни. При уровне значимости $p < 0,05$ различия двух сравниваемых величин считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Воздействие высокожировой и высокоуглеводной диеты на животных опытной группы приводило к статистически значимым по сравнению с контролем изменениям физиологических и биохимических показателей, а именно: повышению массы тела, увеличению удельной массы печени и висцеральной жировой ткани, повышению артериального давления, увеличению концентрации в крови общего белка и глюкозы (табл. 1).

Таблица 1

Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на физиологические и биохимические параметры крыс, $M \pm SD$		
Показатель	Контрольная группа, $n = 15$	Модель метаболического синдрома, $n = 18$
Масса тела, г	$433,3 \pm 39,4$	$489,1 \pm 47,9$; $p = 0,01$
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	$130,4 \pm 9,5$	$145,1 \pm 8,7$; $p = 0,01$
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.	$86,5 \pm 9,3$	$101,4 \pm 12,2$; $p = 0,028$
Глюкоза натощак, ммоль/л	$4,7 \pm 0,5$	$6,6 \pm 0,4$; $p < 0,001$
Общий белок, г/л	$52,7 \pm 3,4$	$66,7 \pm 3,8$; $p = 0,004$
Общий холестерол, ммоль/л	$1,7 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,3$; $p = 0,001$
ХС-ЛПВП, ммоль/л	$0,6 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$; $p = 0,003$
ХС-ЛПНП, ммоль/л	$0,9 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,4$; $p = 0,02$
ХС-ЛПОНП, ммоль/л	$0,3 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$; $p = 0,03$
Триацилглицеролы, ммоль/л	$0,7 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,5$; $p = 0,001$
Коэффициент атерогенности	$2,5 \pm 0,3$	$3,8 \pm 0,7$; $p = 0,02$
Удельная масса жировой ткани, г	$2,2 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,6$; $p < 0,001$
Удельная масса печени, г	$3,1 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,5$; $p < 0,001$

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями в контрольной группе.

Изменения показателей липидного спектра крови характеризовались повышением концентрации триацилглицеролов, общего холестерина, холестерина в составе липопротеинов низкой (ХС-ЛПНП) и очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП). Концентрация холестерина в составе липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) оказалась ниже контрольных значений, что нашло отражение в коэффициенте атерогенности, который более чем в 1,5 раза ($p = 0,02$) превышал соответствующий показатель в контрольной группе (см. табл. 1).

У животных моделей МС было зарегистрировано снижение толерантности к глюкозе при проведении ГГТ – на графике динамики уровня глюкозы в крови зарегистрировано увеличение площади под кривой «концентрация глюкоза–время» в 1,3 раза по сравнению с результатами у интактных животных (AUC_{0-120}), которая для контрольной группы составила $752,2 \pm 50,4$ ммоль/л \times 120 мин, для экспериментальной группы – $940,9 \pm 55,8$ ммоль/л \times 120 мин ($p = 0,001$) (рис. 1).

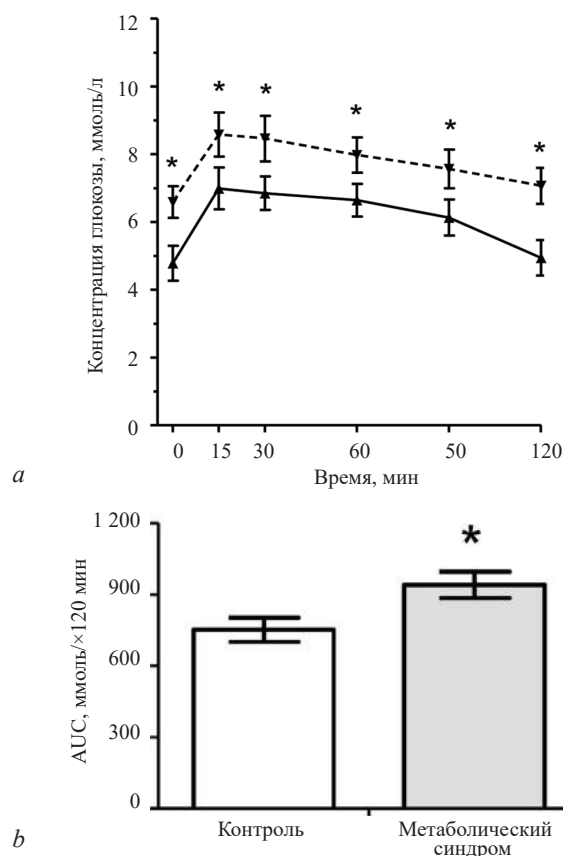


Рис. 1. Изменение концентрации глюкозы в крови крыс (a) и площадь под кривой «концентрация глюкоза–время» (AUC_{0-120}) (b) в глюкозотолерантном тесте: сплошная линия – контрольная группа, пунктирная – экспериментальная группа.

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

При анализе гематологических параметров выявлено увеличение общего количества лейкоцитов в крови у животных опытной группы в среднем в 1,4 раза по сравнению с соответствующим показателем в контрольной группе; количественный анализ лейкоцитарной формулы выявил статистически значимое увеличение абсолютного и относительного числа гранулоцитов в единице объема крови (табл. 2).

По результатам биохимического анализа концентрация белка в жидкости бронхоальвеолярного лаважа у животных опытной группы составила 1,08 ($\pm 0,30$) г/л, что в среднем в 1,5 раза ($p = 0,037$) превысило соответствующее значение в группе интактных

животных (табл. 3). Качественный и количественный анализ цитогаммы БАЛЖ выявил увеличение по сравнению с контрольными значениями общего количества лейкоцитов в единице объема жидкости за счет повышения абсолютного числа всех видов лейкоцитов, присутствующих в БАЛЖ – альвеолярных макрофагов, нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов (см. табл. 3). Исследование концентрации цитокинов в сыворотке крови у экспериментальных животных выявило более высокий по сравнению с контрольными значениями уровень IL-10 и TNF α ; в БАЛЖ статистически значимо превышала контрольные значения концентрация IL-6 и MCP-1 (табл. 4).

Таблица 2

Общее количество лейкоцитов и показатели гемограммы у экспериментальных животных, $Me (Q_{25}; Q_{75})$			
Показатель		Контрольная группа, $n = 15$	Модель метаболического синдрома, $n = 18$
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$		9,9 (9,4; 10,9)	13,7 (11,4; 15,0); $p = 0,001$
Количественный состав клеток (в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах, $\times 10^9/\text{л}$)	Гранулоциты	$\frac{28,2 (25,9; 31,3)}{2,5 (1,7; 3,6)}$	$\frac{33,2 (31,5; 34,2)}{3,9 (3,2; 4,4)}; p = 0,001$
	Лимфоциты	$\frac{65,3 (64,2; 67,6)}{7,6 (5,9; 8,3)}$	$\frac{64,2 (62,7; 66,2)}{7,1 (6,4; 8,5)}; p = 0,343$
	Моноциты	$\frac{3,4 (3,0; 3,6)}{0,4 (0,2; 0,4)}$	$\frac{3,5 (3,1; 4,0)}{0,5 (0,3; 0,4)}; p = 0,166$

Таблица 3

Концентрация белка, $M \pm SD$, общее количество лейкоцитов и показатели цитогаммы БАЛЖ у экспериментальных животных, $Me (Q_{25}; Q_{75})$			
Показатель		Контрольная группа, $n = 15$	Модель метаболического синдрома, $n = 18$
Общий белок, г/л		0,74 ($\pm 0,20$)	1,08 ($\pm 0,30$); $p = 0,037$
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$		0,55 (0,30; 0,84)	0,80 (0,65; 1,55); $p = 0,047$
Количественный состав клеток (в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах, $\times 10^9/\text{л}$)	Альвеолярные макрофаги	$\frac{42,60 (38,50; 53,00)}{0,23 (0,13; 0,39)}$	$\frac{51,50 (33,88; 55,25)}{0,66 (0,51; 0,87)}; p = 0,677$
	Нейтрофильные гранулоциты	$\frac{47,00 (41,60; 55,50)}{0,27 (0,14; 0,36)}$	$\frac{45,25 (36,50; 55,50)}{0,58 (0,02; 0,09)}; p = 0,589$
	Лимфоциты	$\frac{5,50 (1,75; 7,75)}{0,02 (0,01; 0,04)}$	$\frac{7,00 (2,38; 9,88)}{0,05 (0,02; 0,09)}; p = 0,146$

Таблица 4

Концентрация цитокинов, пг/мл, в сыворотке крови и БАЛЖ у экспериментальных животных, $Me (Q_{25}; Q_{75})$				
Параметр	Сыворотка крови		БАЛЖ	
	Контрольная группа, $n = 15$	Модель метаболического синдрома, $n = 18$	Контрольная группа, $n = 15$	Модель метаболического синдрома, $n = 18$
IL-6	5,5 (2,3; 6,3)	7,8 (4,7; 14,1); $p = 0,152$	5,3 (4,7; 9,2)	9,7 (9,4; 15,7); $p = 0,007$
IL-10	11,8 (6,0; 23,8)	43,3 (21,9; 54,7); $p = 0,029$	59,9 (37,4; 74,5)	66,1 (38,4; 85,9); $p = 0,351$
TNF α	2,6 (2,6; 5,2)	10,8 (6,4; 11,7); $p = 0,035$	40,1 (20,6; 46,2)	39,6 (31,5; 42,5); $p = 0,863$
MCP-1	158,6 (91,7; 454,6)	155,7 (111,7; 407,3); $p = 0,423$	166,7 (131,5; 352,5)	284,3 (184,0; 498,1); $p = 0,045$

ОБСУЖДЕНИЕ

Воспроизведение в эксперименте на животных генетических либо индуцированных диетой и химическими веществами моделей МС позволяет исследовать изменения параметров гомеостаза и анализировать влияние формирующихся метаболических нарушений на различные органы и системы.

Диет-индуцированные комбинированные *in vivo* модели МС с высоким содержанием в рационе жира и углеводов в большей степени близки к несбалансированному питанию человека, наиболее соответствуют алиментарному ожирению и адекватны по механизмам развития МС и связанной с ним сопутствующей патологии [10–12].

Модель, воспроизведенная в нашем эксперименте, отражала основные биометрические и биохимические изменения, соответствующие МС. У крыс, находящихся на 12-недельной высокожировой и высокоуглеводной диете, наблюдалось увеличение массы тела за счет накопления висцеральной жировой ткани и гепатомегалии, а также регистрировалась артериальная гипертензия с повышением как систолического, так и диастолического давления (см. табл. 1). При биохимическом анализе крови были выявлены изменения, свидетельствующие о нарушении углеводного и липидного обменов, а именно: гипергликемия натощак, низкая толерантность к глюкозе, дислипидотеинемия с повышением в крови уровня триацилглицеролов, атерогенных фракций липопротеинов (ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП) и снижением концентрации липопротеинов высокой плотности. Коэффициент атерогенности, рассчитанный для животных опытной группы, более чем в 1,5 раза превышал контрольные значения (см. табл. 1, рис. 1).

Ряд исследований подтвердил тот факт, что факторы иммунной системы активно вовлекаются в патогенез алиментарнозависимых заболеваний [13, 14]. Важное значение в патогенезе МС отводится асептическому воспалению жировой ткани, индукторами которого являются макро- и микронутриенты, а также продукты обмена, образующиеся в висцеральном жире при его избыточном накоплении [15]. Такое «метаболическое» воспаление часто не имеет выраженных клинических проявлений, но сопровождается локальными стромально-сосудистыми и функциональными изменениями жировой ткани – гипертрофией адипоцитов, инфильтрацией иммунными клетками, фиброзом внеклеточного матрикса, нарушением микроциркуляции, изменением секреторного фенотипа клеточных элементов [14]. Тем не менее в ряде случаев лабораторные тесты выявляют в крови повышение уровня неспецифических маркеров воспаления, таких как С-реактивный белок, фибриноген, прокальцитонин и других, коррелирующее с выраженностью воспалительного процесса в жировой ткани [16].

В результате проведенного нами эксперимента у животных – моделей МС было выявлено повышение общего количества лейкоцитов за счет гранулоцитарного компонента, а также увеличение концентрации белка в сыворотке крови по сравнению с соответствующими параметрами у интактных животных (см. табл. 1, 2). Наряду с этим мы зарегистрировали повышение концентрации $\text{TNF}\alpha$ и IL-10 в сыворотке крови (см. табл. 4). Выявленные изменения являются общими признаками воспалительного ответа, разви-

вающегося на фоне диет-индуцированного нарушения обмена веществ [17–19].

Факторы системного воспаления, ассоциированного с МС и ожирением, способствуют развитию патологии различных органов и систем, что подтверждается большим количеством экспериментальных и клинических исследований [2, 20]. Одним из информативных методов обнаружения биологических маркеров большинства заболеваний легких является исследование БАЛЖ (цитологическое, биохимическое, иммунологическое), которое дает точные представления о направленности и степени выраженности защитно-приспособительных и патологических реакций в легких и позволяет изучить системные механизмы поддержания структурного и функционального гомеостаза бронхолегочной системы [7, 8].

В результате анализа цитограммы БАЛЖ, полученной у животных моделей МС, нами установлено увеличение по сравнению с контрольными значениями общего количества лейкоцитов, а также их отдельных морфологических форм – абсолютного числа альвеолярных макрофагов, нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов (см. табл. 3). В норме макрофаги представляют большинство фагоцитов в нижних дыхательных путях [21]. При воспалении представительство альвеолярных макрофагов увеличивается как за счет пролиферации резидентных клеток (преимущественно), так и за счет рекрутинга (в меньшей степени) макрофагов моноцитарного происхождения из периферической крови [22]. Инфильтрирующие ткани моноциты оказываются в специфическом микроокружении и развиваются в макрофаги с измененными функциями, зачастую усугубляя реакции воспаления [23]. Предполагают, что именно рекрутированные из крови моноциты, а не пролиферирующие резидентные альвеолярные макрофаги, в легких являются предшественниками M1 -поляризованных макрофагов. Последние отличаются выраженной цитотоксической и антимикробной активностью, секретируют большое количество активных форм кислорода, азота, провоспалительных цитокинов и способствуют альтерации и прогрессированию воспаления в слизистой оболочке бронхов [24].

В результате анализа цитокинового профиля БАЛЖ мы выявили повышение более чем в 1,5 раза концентрации IL-6 и MCP-1 у животных с МС по сравнению с контрольными значениями (см. табл. 4). Известно, что моноцитарный хемотаксический фактор преимущественно секретируется моноцитами-макрофагами, дендритными клетками и легочными фибробластами и увеличивает хемотаксическую

активность моноцитов, но не нейтрофилов [25]. IL-6 – плейотропный цитокин, обладающий как про-, так и противовоспалительными свойствами за счет реализации разных видов сигналинга [26]. При хронических заболеваниях легких IL-6 имеет решающее значение для привлечения нейтрофилов в область воспаления, так как приводит к синтезу необходимых хемокинов эндотелиальными клетками в результате трансигналинга. При этом нейтрофилы, привлеченные в очаг воспаления, являются одним из источников растворимой формы рецептора для IL-6 (sIL-6R), необходимой для инициирования трансигналинга в отношении структурных клеточных элементов легких (фибробластов, эпителиальных, эндотелиальных и гладкомышечных клеток) [27, 28]. В свою очередь избыточная провоспалительная активность клеточных компонентов интерстициального легочного матрикса может приводить к повышению проницаемости альвеолярного-капиллярного барьера, подтверждением чему является выявленное нами увеличение концентрации белка в жидкости бронхоальвеолярного лаважа в группе животных с метаболическим синдромом (см. табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальный диет-индуцированный МС сопровождается развитием системного воспалительного ответа, лабораторными признаками которого являются нейтрофильный лейкоцитоз в крови, повышение сывороточной концентрации белка, иммуноцитокінов TNF α и IL-10. Органоспецифическими изменениями, характеризующими негативное влияние факторов МС на состояние бронхолегочной системы у экспериментальных животных, являются качественные и количественные изменения состава БАЛЖ, а именно увеличение концентрации белка, повышение содержания клеточных элементов (альвеолярных макрофагов, нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов), повышение концентрации провоспалительных цитокинов IL-6 и MCP-1. Поскольку данные изменения имеют воспалительный характер, целесообразной в дальнейших экспериментах представляется оценка структурных и морфофункциональных изменений в бронхоальвеолярном отделе у лабораторных животных, возникающих на фоне МС с оценкой их интенсивности во взаимосвязи с факторами системного и локального воспаления.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Lee J., Lee K.S., Kim H., Jeong H., Choi M.J., Yoo H.W. et al. The relationship between metabolic syndrome and the incidence of colorectal cancer. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 2020;25(1):6. DOI: 10.1186/s12199-020-00845-w.
- Segula D. Complications of obesity in adults: a short review of the literature. *Malawi Med. J.* 2014; 26(1):20–24.
- Laakso M., Kuusisto J., Stančáková, A., Kuulasmaa T., Pakujanta P., Lusa A.J. et al. The Metabolic Syndrome in Men study: a resource for studies of metabolic and cardiovascular diseases. *Journal of Lipid Research*. 2017;58(3):481–493. DOI: 10.1194/jlr.O072629.
- Будневский А.В., Малыш Е.Ю., Овсянников Е.С., Дробышева Е.С. Бронхиальная астма и метаболический синдром: клинико-патогенетические взаимосвязи. *Терапевтический архив*. 2015;87(10):110–114. DOI: 10.17116/terarkh20158710110-114.
- Будневский А.В., Овсянников Е.С., Лабжания Н.Б. Сочетание хронической обструктивной болезни легких и метаболического синдрома: патофизиологические и клинические особенности. *Терапевтический архив*. 2017;89(1):123–127. DOI: 10.17116/terarkh2017891123-127.
- Воронкова О.В., Саприна Т.В., Букреева Е.Б., Зима А.П. Этиопатогенетические параллели и нерешенные вопросы патогенеза коморбидности хронической обструктивной болезни легких и метаболического синдрома (обзор литературы). *Ожирение и метаболизм*. 2020;17(3):292–298. DOI: 10.14341/omet12378.
- Зиновьев С.В., Селиверстов С.С., Целуйко С.С., Горбунов М.М., Семенов Д.А. Морфологическая характеристика открытого бронхоальвеолярного лаважа легкого крысы. *Амурский медицинский журнал*. 2015;4(12):103–108.
- Алимкина О.В., Петренко А.Э., Савченко Е.С., Огнева Н.С., Таболякова Л.А., Максименко С.В. и др. Анализ клеточного состава бронхоальвеолярного лаважа при моделировании и лечении острого респираторного дистресс-синдрома на мышцах-биомоделях. *Биомедицина*. 2021;17(3):17–22. DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-17-22.
- Матичин А.А., Кательникова А.Е., Крышень К.Л. Особенности отбора бронхоальвеолярного лаважа у лабораторных животных. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019;4:6. DOI: 10.29296/2618723X-2019-04-06.
- Woods S.C., Seeley R.J., Rushing P.A., D'Alessio D., Tso P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J. Nutr.* 2003; 133(4):1081–1087. DOI: 10.1093/jn/133.4.1081.
- Jawien J., Nastalek P., Korbut R. Mouse models of experimental atherosclerosis. *J. Physiol. Pharmacol.* 2004;55(3):503.
- Tran L.T., Yuen V.G., McNeill J.H. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol. Cell. Biochem.* 2009;332(1-2):145–159. DOI: 10.1007/s11010-009-0184-4.
- Ригер Н.А., Апрятин С.А., Шипелин В.А., Гмошинский И.В. Иммунологические маркеры алиментарно-индуцированной гиперлипидемии у крыс линии Вистар. *Вопросы питания*. 2019;88(3):44–52. DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10028.
- Романцова Т.И., Сыч Ю.П. Иммунометаболизм и метавоспаление при ожирении. *Ожирение и метаболизм*. 2019;16(4):3–17. DOI: 10.14341/omet12218.
- Беспалова И.Д., Рязанцева Н.В., Калужин В.В. и др. Системное воспаление в патогенезе метаболического синдрома и ассоциированных с ним заболеваний. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2013;117(2):5–9.

16. Шварц В. Воспаление жировой ткани (часть 1). Морфологические и функциональные проявления. *Проблемы эндокринологии*. 2009;55(4):44–49. DOI: 10.14341/probl200955444-49.
17. Крюков Н.Н., Гинзбург М.М., Киселева Е.В. Современный взгляд на роль асептического воспаления жировой ткани в генезе ожирения и метаболического синдрома. *Артериальная гипертензия*. 2013;19(4):305–310. DOI: 10.18705/1607-419X-2013-19-4-.
18. McCracken E., Monaghan M., Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clin. Dermatol.* 2018;36(1):14–20. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2017.09.004.
19. Lee B.-C., Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2014;1842(3):446–462. DOI: 10.1016/j.bbadis.2013.05.017.
20. Кологривова И.В., Винницкая И.В., Кошельская О.А., Суслова Т.Е. Висцеральное ожирение и кардиометаболический риск: особенности гормональной и иммунной регуляции. *Ожирение и метаболизм*. 2017;14(3):3–10. DOI: 10.14341/OMET201733-10.
21. Kodavanti U.P. Respiratory toxicity biomarkers. Biomarkers in Toxicology. *Academic Press*. 2014:217–239. DOI: 10.1016/B978-0-12-404630-6.00012-9.
22. Лямина С.В., Шимшелашвили Ш.Л., Калиш С.В., Малышева Е.В., Ларионов Н.П., Малышев И.Ю. Изменение фенотипа и фенотипической пластичности альвеолярных макрофагов при заболеваниях легких, имеющих воспалительный компонент. *Пульмонология*. 2012;6:83–89. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-6-83-89.
23. Кжышковска Ю.Г., Грачев А.Н. Маркеры моноцитов и макрофагов для диагностики иммунопатологий. *Патогенез*. 2012;10(1):14–19.
24. Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K., Fisher E.A., Gilroy D.W., Goerdt S. et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014;41(1):14–20. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
25. Колотов К.А., Распутин П.Г. Моноцитарный хемотаксический протеин-1 в физиологии и медицине. *Пермский медицинский журнал*. 2018;35(3):99–105. DOI: 10.17816/pmj35399-105.
26. Rincon M., Irvin C.G. Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases. *Int. J. Biol. Sci.* 2012;8(9):1281–1290. DOI: 10.7150/ijbs.4874.
27. Durham A.L., Caramori G., Chung K.F., Adcock I.M. Targeted anti-inflammatory therapeutics in asthma and chronic obstructive lung disease. *Transl. Res.* 2016;167(1):192–203. DOI: 10.1016/j.trsl.2015.08.004.
28. Wolf J., Rose-John S., Garbers C. Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system. *Cytokine*. 2014;70(1):11–20. DOI: 10.1016/j.cyto.2014.05.024.

Вклад авторов

Воронкова О.В., Бирулина Ю.Г., Иванов В.В. – разработка концепции и дизайна исследования, написание рукописи. Буйко Е.Е., Григорьева А.В., Чернышов Н.А., Мотлохова Е.А. – выполнение экспериментальной части исследования. Осихов И.А., Есимова И.Е. – анализ и интерпретация данных.

Информация об авторах

Воронкова Ольга Владимировна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, voronkova-ov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9478-3429>

Бирулина Юлия Георгиевна – канд. биол. наук, доцент, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, birulina20@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1237-9786>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, руководитель Центра доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9348-4945>

Буйко Евгений Евгеньевич – лаборант, Центр доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, buykoevgen@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6714-1938>

Есимова Ирина Евгеньевна – д-р мед. наук, доцент, кафедра биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, orevi@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7508-2878>

Григорьева Анна Валерьевна – ассистент, кафедра биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, anna-grigoreva-87@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1962-9584>

Осиков Иван Анатольевич – канд. мед. наук, доцент, кафедра биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, osikhov.25-88@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4873-7680>

Чернышов Никита Алексеевич – студент, СибГМУ, niki-rembo@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4008-5606>

Мотлохова Елизавета Андреевна – студентка, СибГМУ, emotlokhova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-7409-3770>

(✉) **Воронкова Ольга Владимировна**, voronkova-ov@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022;
одобрена после рецензирования 21.04.2022;
принята к публикации 09.06.2022