

УДК 616.24-002+616.64]:615.9-092.9.(045)

СНИЖЕНИЕ ИММУНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ К ПНЕВМОНИИ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ ОЗОНОМ: ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА

© 2011 А.Н. Микеров, Е.С. Сергеева, Н.И. Алексеева, Ю.Ю. Елисеев

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского

Поступила в редакцию 05.10.2011

Известно, что озон является одним из ведущих антропогенных загрязнителей воздуха, являясь ключевым ингредиентом городского смога. Ингаляция озона оказывает значительное влияние на течение и исход пневмонии. Нами ранее было показано, что хотя самки мышей более устойчивы к пневмонии, чем самцы, после ингаляции озона самки выживали меньше, чем самцы. Цель работы: изучение механизмов данной закономерности путём гистопатологической оценки факторов риска развития пневмонии после ингаляции озона. Результаты показали: 1) острота воспаления и область поражения лёгких были выше, миелопоэз в красной пульпе селезёнки был снижен у мышей обоих полов, подвергнутых ингаляции озона и последующего заражения пневмонией по сравнению с контролем; 2) более выраженные поражения экстрапульмонарных тканей (печени и селезёнки) были отмечены у самцов по сравнению с самками после ингаляции воздуха и пневмонии; 3) более выраженное воспаление было отмечено в лёгких самок по сравнению с самцами после ингаляции озона и пневмонии. Таким образом, разные факторы риска вносят вклад в различный исход пневмонии у разных полов в зависимости от присутствия и отсутствия окислительного стресса, вызванного ингаляцией озона: избыточный воспалительный ответ в лёгких у самок после ингаляции озона и риск поражения экстрапульмонарных органов у самцов после ингаляции воздуха.

Ключевые слова: озон, пневмония, половые различия, селезёнка, лёгкие

Заболевания лёгких являются одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения. Среди факторов риска заболеваний лёгких – пол и антропогенное загрязнение атмосферного воздуха, в частности, озоном. Известно, что мужчины более подвержены заболеванию пневмонией, чем женщины и имеют менее благоприятный прогноз течения заболевания [1, 2]. В тоже время повышенное загрязнение воздуха также может приводить к обострению или увеличению случаев респираторных заболеваний [3]. Озон, вторичный фотооксидант, накапливающийся в тропосфере при интенсивном антропогенном загрязнении атмосферного воздуха, является сильным окислителем и может повреждать ткани и подвергать белки окислительной модификации, что, в свою очередь, может приводить к снижению

защитной функции лёгких [4]. Ранее мы показали, что хотя самки мышей более устойчивы к пневмонии, чем самцы, ингаляция озона приводила к значительному снижению иммунорезистентности самок к пневмонии по сравнению с самцами [5]. Исход пневмонии во многом зависит как от патологических изменений в лёгких, так и от диссеминации инфекции из лёгких в другие внутренние органы.

Цель работы: сравнительное исследование гистопатологических изменений в лёгких, селезёнке и печени у самцов и самок мышей после ингаляции озона или воздуха и последующего заражения пневмонией.

Методы исследования. Самцы и самки мышей линии C57BL/6 в возрасте 8-12 недель были разделены на 2 группы по 5 мышей: одна группа была подвергнута ингаляции озона (в дозе 2 ppm в течение 3 часов), а другая – ингаляции фильтрованного воздуха (контроль). Затем все мыши были инфицированы пневмонией, как описано ранее [5]. Бактерии *K. pneumonia* (ATCC 43816) были выращены на питательном бульоне TSB и бактериальная суспензия для заражения была приготовлена в PBS. После ингаляции озона или воздуха мыши были внутритрахеально инфицированы полученной бактериальной суспензией в дозе 450 КОЕ/мышь. Окрашенные

Микеров Анатолий Николаевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей гигиены и экологии. E-mail: am.07@inbox.ru

Сергеева Евгения Сергеевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей гигиены и экологии
Алексеева Наталья Ивановна, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры общей гигиены и экологии

Елисеев Юрий Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей гигиены и экологии. E-mail: yeliseev55@mail.ru

гематоксилином и эозином ткани лёгких, селезёнки и печени были гистологически исследованы спустя 48 часов после инфицирования. Статистическую обработку данных проводили с помощью t-теста. Результаты были признаны статистически достоверными в случае, если $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было обнаружено:

1) После заражения пневмонией уровень воспалительного ответа в лёгких был выше (рис. 1),

а уровень иммунного ответа в красной пульпе селезёнки был ниже (рис. 2) у мышей обоих полов, подвергнутых ингаляции озона по сравнению с мышами после ингаляции воздуха. Острый воспалительный ответ в лёгких и снижение уровня иммунного ответа в красной пульпе селезёнки могут являться факторами, отвечающими за более низкий уровень выживания мышей обоих полов после ингаляции озона и последующей пневмонии по сравнению с контролем (ингаляция воздуха и пневмония).

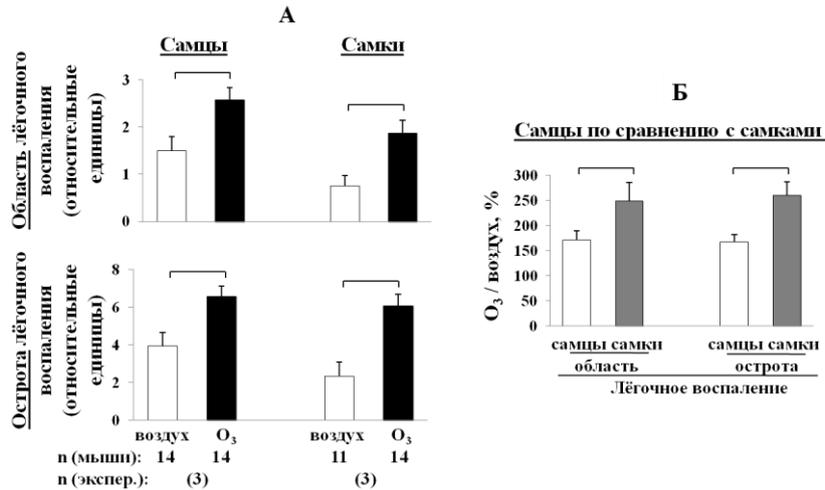


Рис. 1. Область и острота лёгочного воспаления у самок и самцов мышей после ингаляции воздуха или озона и последующей пневмонии

Животные были обработаны озоном (чёрные столбики) или воздухом (белые столбики, контроль) перед инфицированием. А: Область лёгочного воспаления (%). Данные были конвертированы в шкалу: 0 – для <1%, 1 – для 1-4%, 2 – для 5-14%, 3 – для 15-24%, и 4 – для ≥25%. Данные остроты лёгочного воспаления были конвертированы в: 0 – норма, 1 и 2 – минимальное, 3 и 4 – лёгкое, 5 и 6 – умеренное, 7 и 8 – резкое. Б: Сравнение воспалительного ответа в лёгких самцов и самок. Данные были нормализованы к контролю согласно формуле: озон / воздух × 100%. Количество независимых экспериментов было 3. Статистически достоверные различия показаны скобами.

2) В отсутствии ингаляции озона после заражения пневмонией самцы имели более высокий риск развития экстрапульмонарных поражений (в селезёнке и печени) по сравнению с самками (см. таблицу), что может объяснять их большую чувствительность к развитию пневмонии.

3) После ингаляции озона и последующего заражения пневмонией самки имели более высокий уровень воспалительного ответа в лёгких по сравнению с самцами (рис. 1). Острый воспалительный ответ в лёгких самок после ингаляции озона и пневмонии может являться фактором, вносящим вклад в более низкую выживаемость самок мышей после обработки озоном и последующей пневмонии по сравнению с самцами.

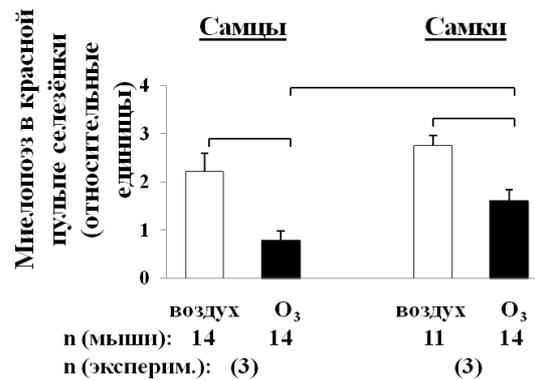


Рис. 2. Сравнение гистопатологических изменений в красной пульпе селезёнки у самцов и самок мышей после ингаляции озона и заражения пневмонией

Данные по изменениям в селезёнке были конвертированы в шкалу: 0 – норма, 1 – минимальные, 2 – лёгкие, 3 – умеренные, 4 – резкие. Количество независимых экспериментов было 3. Статистически достоверные различия показаны скобами.

Таблица 1. Гистопатологические изменения в печени и селезёнке у самок и самцов мышей после ингаляции озона и последующей пневмонии

Пол	Ингаляция	Инфаркт печени*	Тромбоз селезёнки
самцы	воздух	9/14	8/14
	озон	3/14	4/14
самки	воздух	4/14	5/14
	озон	4/14	1/14

Примечание: *Животные были обработаны как описано в методах. Числитель показывает количество мышей с изменениями, а знаменатель – общее количество животных в группе. Было проведено 3 независимых эксперимента.

Выводы: гистопатологический анализ тканей выявил, что разные факторы риска вносят вклад в развитие пневмонии в зависимости от наличия или отсутствия ингаляции озона перед инфицированием и могут, таким образом, объяснять различную степень выживаемости самок и самцов мышей после пневмонии в присутствии и отсутствии окислительного стресса, вызываемого озоном.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Gutierrez, F.* The influence of age and gender on the population-based incidence of community-acquired pneumonia caused by different microbial pathogens / *F. Gutierrez, M. Masia, C. Mirete et al.* // *J. Infect.* 2006. V. 53. P. 166-174.
2. *Gannon, C.J.* Male gender is associated with increased risk for postinjury pneumonia / *C.J. Gannon, M. Pasquale, L.K. Tracy et al.* // *Shock.* 2004. V. 21. P. 410-414.
3. *Peel, J.L.* Ambient air pollution and respiratory emergency department visits / *J.L. Peel, P.E. Tolbert, M. Klein et al.* // *Epidemiology.* 2005. V. 16. P. 164-174.
4. *Hollingsworth, J.W.* Ozone and pulmonary innate immunity / *J.W. Hollingsworth, S.R. Kleeberger, W.M. Foster* // *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2007. N 4. P. 240-246.
5. *Mikero, A.N.* Sex differences in the impact of ozone on survival and alveolar macrophage function of mice after *Klebsiella pneumoniae* infection / *A.N. Mikero, X. Gan, T.M. Umstead et al.* // *Respir. Res.* 2008. N 9. P. 24.

REDUCTION OF THE IMMUNE RESISTANCE IN MALE AND FEMALE MICE TO PNEUMONIA AFTER OZONE EXPOSURE: HISTOPATHOLOGIC ASSESSMENT OF RISK FACTORS

© 2011 A.N. Mikero, E.S. Sergeeva, N.I. Alekseyeva, Yu.Yu. Yeliseev

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovskiy

It is known that ozone, a key ingredient of smog in the cities, is one of the critical anthropogenic air pollutants. Ozone exposure impacts the pneumonia course. We have shown before that although female mice were more resistant to pneumonia than males, ozone exposure made them more susceptible. The aim of this work was to study the mechanisms of these trends by the histopathologic evaluation of the risk factors for pneumonia after ozone exposure. The results showed: 1) the severity and the area of the lung inflammation were higher and the red pulp spleen myelopoiesis was lower in mice of both sexes after ozone exposure and pneumonia compared to control; 2) more pronounced extrapulmonary lesions (in liver and spleen) were detected in filtered air-exposed and infected males compared to females; 3) more severe lung inflammation was found in ozone-exposed and infected female mice compared to males. Thus, different risk factors contributes into the different outcome of pneumonia in different sexes depending on the presence or absence of oxidative stress caused by ozone exposure: excessive lung inflammatory response in females after ozone exposure, and the higher risk for extrapulmonary lesions in males after filtered air exposure.

Key words: *ozone, pneumonia, sex differences, spleen, lung*

Anatoliy Mikero, Candidate of Biology, Associate Professor at the Common Hygiene and Ecology Department. E-mail: am.07@inbox.ru
Evgeniya Sergeeva, Candidate of Medicine, Assistant at the Common Hygiene and Ecology Department
Nataliya Alekseeva, Candidate of Medicine, Senior Lecturer at the Common Hygiene and Ecology Department
Yuriy Yeliseev, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Common Hygiene and Ecology Department. E-mail: yeliseev55@mail.ru