

ISSN 2073-0071

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ

ГУМАНИТАРНЫХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

03

март

2016

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

Волчков В.А., Дубровская В.Ф., Сейлиев А.А., Жуйков А.Г., Розенберг О.А. ©
ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства
здравоохранения РФ, Санкт-Петербург

КОРРЕКЦИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ЛЕГКИХ СУРФАКТАНТОМ-БЛ ПРИ БЛЕОМИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОМ АЛЬВЕОЛИТЕ У ЖИВОТНЫХ

Аннотация

Ингаляцию крыс сурфактантом-БЛ проводили в ранний и отсроченный период развития блеомицинового альвеолита. Введения препарата уменьшали объем и изменяли состав внутриальвеолярного содержимого, а также ослабляли альтерации в стенках альвеол. Наблюдалось улучшение структурных характеристик ткани легкого, что обусловило сохранность дыхательной функции у леченых животных.

Ключевые слова: блеомицин, альвеолит, сурфактант-БЛ, сурфактант-терапия.

Keywords: bleomycin, alveolitis, surfactant-BL, surfactant-treatment.

Сурфактант-БЛ (СБЛ), производимый в России из легких крупного рогатого скота [1], успешно используется для лечения респираторного дистресс-синдрома у новорожденных [2] и взрослых [3], а также в комплексной терапии туберкулеза легких [4]. Нарушения в системе легочного сурфактанта являются важнейшим звеном в патогенезе заболеваний легких. В настоящее время остается неизученной степень лечебного эффекта СБЛ при его использовании в различные сроки патологического процесса, что и явилось целью настоящего исследования. Моделью служил блеомицин-индуцированный альвеолит у крыс.

Методика исследования

Объектом исследования служили 90 белых нелинейных крыс-самцов массой 150-220 г. Животным под эфирным наркозом вводили однократно интратрахеально блеомицин (БМ) в изотоническом растворе NaCl (10 мг/кг). Крысам 1-ой группы ингаляции СБЛ в дозе 15 мг/кг проводили на 1, 3 и 5 сутки, а 2-ой группы – на 8, 10 и 12 сутки после введения БМ. Контролем служили крысы после введения БМ.

Через 3 и 10 суток после последнего введения СБЛ животных обеих групп выводили из опыта в состоянии глубокого тиопенталового наркоза (25 мг/кг). Парафиновые срезы всех долей легкого толщиной 6-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизон. Определяли долю ткани, приходящуюся на: «ателектаз» – отсутствие воздушности за счет obturation полостей альвеол, а также отека и клеточной инфильтрации их стенок; «альвеолит» – частичное уменьшение объема альвеол; «норму» – участки неизменной ткани или с небольшими альтерациями без нарушения воздушности. На каждый из сроков в контрольной и в подопытных группах исследовали легкие 6 крыс. Проводили количественный анализ распространенности различных нарушений структуры легких с помощью окулярной сетки при подсчете 4500-9000 точек у каждого из обследованных животных.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани из средней доли правого легкого фиксировали в 3% растворе глутаральдегида на какодилатном буфере (pH=7,4), заливали в аралдит и ультратонкие срезы исследовали в микроскопе JEM-1200. На каждый из сроков во всех группах изучали материал от 3 животных в ткани легкого площадью от 5500 до 6500 мкм². Оценивали степень выраженности нарушений в тонкой организации стенок альвеол, а также характер внутриальвеолярного содержимого с определением доли объема полостей альвеол, занятых экссудатом и структурными элементами. Количественный анализ электроннограмм (первичной увеличение x3000) проводили с помощью компьютерной программы Image-Pro Plus 20 (Media Cybernetics). Статистическую значимость различий между средними величинами выборочных долей оценивали с помощью ф-критерия Фишера и t-критерий Стьюдента [5].

© Волчков В.А., Дубровская В.Ф., Сейлиев А.А., Жуйков А.Г., Розенберг О.А., 2016 г.

Результаты

Через 1 сутки после введения БМ, т.е. к моменту начала ингаляций СБЛ в 1 группе животных наблюдалось увеличение проницаемости стенок капилляров с наличием клеточной инфильтрации интерстиция стенок альвеол. В полостях альвеол появлялся экссудат с примесью детрита, комков и нитей фибрина. В некоторых участках легкого происходило внедрение цитоплазматических отростков фибробластов в альвеолы с образованием тонких, хаотично расположенных коллагеновых фибрилл (Табл.). Зарегистрированные явления свидетельствовали о начале развития отечно-альтеративной фазы альвеолита.

Через 8 суток после введения БМ (3 суток после окончания ингаляций СБЛ животным 1-й группы) леченые и нелеченые животные не имели существенных различий по величине объема неизменной ткани легкого. Однако у леченых крыс увеличение доли ткани с явлениями альвеолита сочеталось со статистически значимым ($P<0,001$) уменьшением распространенности тяжелых повреждений легкого с образованием ателектаза (Табл.).

Исследование ультраструктуры ткани легкого в областях альвеолита свидетельствовало о меньшей выраженности признаков патологического процесса у леченых животных. Ингаляции СБЛ способствовали ослаблению отека стенок альвеол с уменьшением численности клеток воспаления, а также лучшей сохранности, как количества, так и ультраструктуры альвеолоцитов II типа. Дефицит оптически плотных телец, связанных с производством легочного сурфактанта, был значительно меньшим в альвеолоцитах II типа у леченых животных по сравнению с нелечеными. В полостях альвеол более чем в 2 раза ($P<0,01$) снижался объем экссудата с уменьшением в нем детрита и фибриллярных элементов (Табл.).

Таблица

Доля (%) ткани легких и полостей альвеол с нарушениями структуры ($M\pm m$)

Группа	Срок после введения БМ (сут)	Состояние ткани легкого			Содержимое полостей альвеол		
		Норма	Альвеолит	Ателектаз	Экссудат	Детрит	Фибриллы
Конт- роль	1	68,2±0,38	23,5±0,30	8,3±0,18	29,5±6,42	2,1±0,36	0,9±0,40
	8	18,7±0,23	14,8±0,23	66,5±0,43	49,2±7,06	3,3±0,58	5,9 ±1,19
	15	28,4±0,27	37,2±0,35	34,4±0,32	10,9±3,51	5,2±0,86	0,1±0,09
	22	27,8±0,27	55,2±0,38	17,0±0,23	41,8±6,63	4,5±0,81	3,7±1,03
1	8	20,4±0,26	35,0±0,34	44,6±0,34	19,4±5,81	1,6±0,37	1,1±1,38
	P*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,05	<0,05
1	15	46,0±0,30	41,4±0,34	12,6±0,21	0,0±0,00	1,1±0,28	0,0±0,00
	P*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,001	-
2	15	30,4±0,25	41,4±0,32	28,2±0,50	0,0±0,00	4,4±1,06	0,0±0,00
	P*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	-	-
2	22	48,0±0,26	26,8±0,28	25,2±0,27	7,9±2,47	5,0±0,93	0,0±0,00
	P*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-	<0,05

Примечание: * - величина P при наличии статистически значимых различий между опытной и соответствующей контрольной группами

Через 15 суток после введения БМ (10 суток после окончания сурфактант-терапии) у животных сравниваемых групп доля ткани с ателектазом уменьшалась по сравнению с предыдущим сроком исследования, что было более значимо в легких леченых крыс. Вместе с тем, увеличивались зоны легкого с альвеолитом, а также объем воздушных областей, который у ингалированных крыс статистически значимо ($P<0,001$) превышал показатели нелеченых животных (Табл.). Исследование ультраструктуры в зонах воспаления свидетельствовало о меньшей выраженности признаков альвеолита у животных, получавших СБЛ. В их легких реже встречались очаги клеточной инфильтрации, интерстициального отека, утолщений базальной мембраны. В полостях альвеол нелеченых животных наблюдались следы серозного выпота, тогда как у леченых – он полностью отсутствовал. Различия между сравниваемыми животными заключались почти в 5-кратном ($P<0,001$) уменьшении объема клеточного детрита. Наряду с гипертрофией альвеолоцитов II типа численность популяции этих клеток у леченых животных и количество оптически плотных телец в них превышали соответствующие значения у крыс, не получавших СБЛ.

Ингаляции СБЛ животным во 2-ой группе были начаты с 8-ых суток после введения БМ на фоне альтеративно-продуктивной фазы развития очагового альвеолита.

Через 15 суток после введения БМ (3 суток после окончания ингаляций СБЛ) у леченых животных доля легкого с ателектазами была незначительно уменьшена в сочетании со столь же небольшим увеличением объема неизменной ткани по сравнению с нелечеными животными. В тонкой организации ткани легкого у нелеченых животных было зарегистрировано ослабление признаков блеомицин-индуцированных повреждений по сравнению с предыдущим сроком исследования. Более заметной эта направленность изменений была у крыс, получавших СБЛ. В их легких наблюдалось полное отсутствие внутриальвеолярного экссудата, тогда как у нелеченых животных в зонах альвеолита серозный экссудат с примесью эритроцитов занимал около 11% полостей альвеол в сочетании с детритом и рыхло расположенными коллагеновыми фибриллами (Табл.). У леченых животных увеличивалась численность альвеолоцитов II типа и количество осмиофильных пластинчатых телец, тогда как у крыс, не получавших СБЛ, заметный дефицит популяции сопровождался нарушениями в ультраструктуре сурфактант-продуцирующих клеток.

К 22-м суткам после введения БМ (10 суток после окончания ингаляций СБЛ) у леченых животных по сравнению с предыдущим сроком исследования увеличивалась воздушность легкого со значительным уменьшением распространенности альвеолита ($P < 0,001$) наряду с небольшим, но статистически значимым ($P < 0,001$) увеличением зон ателектаза по сравнению с нелечеными животными (Табл.).

В тонкой организации ткани легкого у животных обеих групп наблюдались признаки обострения патологического процесса. Нарастала отечность интерстиция стенок альвеол и инфильтрация их клетками воспаления. Появление экссудата в полостях альвеол у животных, получавших СБЛ, хотя и имело место, но доля его была небольшой по сравнению с нелечеными крысами при полном отсутствии формирования тонких коллагеновых фибрилл. Вместе с тем, распад преимущественно эпителиальных клеток приводил к образованию практически одинаковой доли внутриальвеолярного детрита у леченых и нелеченых крыс (Табл.). Обострение альвеолита у животных обеих сравниваемых групп приводило к уменьшению количества альвеолоцитов II типа и осмиофильных пластинчатых телец в них с альтерациями цитоплазматических структур, степень и распространенность которых были меньшими у леченых животных.

Таким образом, ингаляции СБЛ на ранних стадиях формирования хронической рецидивирующей блеомицин-индуцированной патологии легких (1-я группа) приводили к ослаблению нарушений в структуре компонентов ткани, включая сурфактант-продуцирующие клетки. Уменьшалась распространенность зон ателектаза, что обеспечивало улучшение дыхательной функции. Модифицирующее действие препарата сурфактант-БЛ сохранялось и в последующие 10 дней после прекращения ингаляций.

Применение СБЛ в более поздний период развития альвеолита (2-я группа) ослабляло выраженность ряда альтераций в структуре альвеол, но не изменяло сколь-нибудь значимо распространенность ателектазов в ткани легкого на протяжении всего срока наблюдения.

Известно, что при ингаляциях сурфактант-БЛ поступает в полости альвеол легкого с неизменной структурой ткани [6]. Доля таких зон была статистически значимо большей в легких животных 1-й группы. Данное обстоятельство, а также особенности течения патологического процесса к началу лечения и определяют, по-видимому, наибольшую терапевтическую активность препарата при его ингаляциях в ранние сроки формирования блеомицинового альвеолита

Литература

1. О.А.Розенберг, Л.Н.Данилов, В.А.Волчков и др. - Фармакологические свойства и терапевтическая активность отечественных препаратов легочного сурфактанта. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины - 1998, Т.126 - №10 - С.455-458.
2. О.А.Розенберг. - Легочный сурфактант и его применение при заболеваниях легких. // Общая реаниматология – 2007 - Т. 3 - № 1, С. 66-77.
3. А.Е.Баутин, В.В.Осовских, Г.Г.Хубулава и др. - Многоцентровые клинические испытания сурфактанта-ВЛ для лечения респираторного дистресс-синдрома взрослых. // Клинические исследования лекарственных средств в России – 2002 - №2 - С. 18-23.
4. О.В.Ловачева, Н.В.Черниченко, Г.В.Евгущенко и др. – Результаты применения препарата сурфактанта в комплексной терапии больных деструктивным туберкулезом легких. // Проблемы туберкулеза и болезней легких – 2006 - №10 - С. 19-23.
5. Волчков В.А. - Азы биометрии для врачей. Краткое практическое руководство. Palmarium Academic Publishing, Saarbrucken, Deutschland, 2013, ISBN 978-3-8473-9529-4, 71 с.
6. O.Rosenberg, A.Seiliev, A.Zhuikov. - Lung surfactants: Correlation between biophysical characteristics, composition and therapeutic efficacy. // Liposome Technology – 2006 - 3rd edition - V. III, - P. 317-346.