

Садыкова Г.А., Аляви А.Л., Рахматуллаев Х.У., Джамбекова Г.С., Таджиходжаева Ю.Х.

## Эффективность фототерапии и имунорикса при хронической обструктивной болезни легких, вызванной воздействием табачного дыма

ОАО Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации, Ташкент, Узбекистан

В эксперименте вызвана хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) у 75 беспородных белых крыс путем хронического воздействия табачного дыма. Поэтапно в 5 сериях опытов у крыс с ХОБЛ изучена эффективность фототерапии от светолечебной установки СЛУ-2 и общих ламп с керамическим покрытием. В качестве иммуностимулятора применялся внутрь имунорикс. Проведены цитологические, морфологические исследования влияния использованных методов в каждой отдельной серии опытов и в комбинации имунорикса с фототерапией. Контролем служила ХОБЛ без проведенного лечения. Установлена стимуляция, исходно подавленной под воздействием табачного дыма макрофагальной функции легочной ткани при раздельном применении фототерапии и имунорикса при ХОБЛ. Комплексное применение фототерапии (независимо от спектра света) и имунорикса вызвало лимфоцитарную реакцию в виде плотного скопления лимфоцитов в легочной ткани и угнетение макрофагальной активности легочной ткани с тенденцией к образованию тетраплоидных клеток к концу курса лечения. В связи с этим рекомендуется ограничить воздействие фототерапии во время приема имунорикса при ХОБЛ, вызванной хроническим воздействием табачного дыма, что необходимо учитывать в клинической практике.

**Ключевые слова:** эксперимент; табакокурение; хроническая обструктивная болезнь легких; фототерапия; имунорикс; макрофаги; морфология; цитология.

*Sadykova G.A., Alyavi A.L., Rakhmatullaev Kh.U., Dzhambekova G.S., Tadjikhodzhaeva Yu.Kh.*

### THE EFFECTIVENESS OF PHOTOTHERAPY AND IMUNORIX IN THE EXPERIMENTAL CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE CAUSED BY THE INHALATION OF TOBACCO SMOKE

Open joint-stock company Republican Specialized Research and Practical Centre of Therapy and Medical Rehabilitation, Tashkent, Uzbekistan

We have developed the model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by forcing 75 outbred white rats to inhale tobacco smoke. The model was used to evaluate the effectiveness of phototherapy in a sequence of 5 series of experiments with the use of a SLU-2 phototherapeutic apparatus and ordinary ceramic-coated lamps. The immunomodulating agent immunorix was orally administered to the experimental animals. The effects of phototherapy in combination with immunorix or without it in each experimental series were studied by cytological and morphological methods. The animals with untreated experimental COPD served as controls. It was shown that separate application of phototherapy and immunorix stimulated the macrophagal function of the pulmonary tissue suppressed by tobacco smoke. The combination of phototherapy (regardless of the light spectrum) and immunorix caused a lymphocytic reaction in the form of a dense aggregation of lymphocytes in the pulmonary tissue and its reduced macrophagal activity with the tendency toward the formation of tetraploid cells by the end of the treatment course. The results of the study give reason to recommend to decrease the intensity of phototherapy in the case of immunorix treatment of experimental COPD caused by the chronic action of tobacco smoke. This recommendation should be taken into account in the clinical practice.

**Key words:** experiment; tobacco smoking; chronic obstructive pulmonary disease; phototherapy; immunorix; macrophages; morphology; cytology.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) остается чрезвычайно распространенной болезнью, смертность от которой продолжает увеличиваться [1]. Основной причиной развития заболевания является вдыхание раздражающих веществ и прежде всего в процессе курения [2, 3]. Центральным звеном патогенеза ХОБЛ, ответственным за формирование клинических проявлений за-

болевания, является хроническая воспалительная реакция слизистой бронхов и паренхимы легких на фоне нарушенного местного и общего иммунитета [4—8]. При респираторных инфекциях в большинстве стран мира широко используются иммуномодуляторы [9—11]. Нами установлена иммуномодулирующая эффективность дифференцированной спектроразвисямой дозированной фототерапии без и в комплексе с рибомунилом, с солодкой, бентонитом, бишофитом в рандомизированных экспериментальных и клинических исследованиях, что послужило основанием для их применения при ле-

Для корреспонденции: Садыкова Гулора Абраровна; e-mail: gulora@yandex.ru.

For correspondence: Sadykova Gulora Abrarovna; gulora@yandex.ru.

чении хронических неспецифических воспалительных процессах в бронхолегочной системе [12—14]. Использование иммуномодуляторов при ХОБЛ, вызванной табакокурением, требует обоснования. Для профилактики и лечения респираторных инфекций в современных рекомендациях ВОЗ указан лишь препарат Имунорикс (пидотимод), представляющий собой 3-*L*-пироглутамат-*L*-тиазолидин-4-карбоксылную кислоту. Важным представляется разработка схем иммунокоррекции в сочетании с другими лечебными факторами. В литературе данные по механизму действия имунорикса в комплексе с фототерапией при экспериментальной ХОБЛ, вызванной табакокурением, не представлены.

Цель работы — провести сравнительную оценку иммуномодулирующей эффективности фототерапии в комплексе с Имунориksom (фирма "Abbott") на цитологические и морфологические показатели при ХОБЛ, вызванной воздействием табачного дыма.

### Материалы и методы

Модель ХОБЛ воспроизводилась у 75 белых беспородных крыс-самцов массой тела 120—180 г под ежедневным влиянием табачного дыма при помещении животных в специальную «курительную» камеру на 30—40 мин в сутки на протяжении 2 мес [15—17]. В камере создавали необходимую концентрацию табачного дыма, показателем которой служило содержание окиси углерода, определяемое с помощью газоанализатора УГ-2.

После декапитации подопытных животных под легким эфирным наркозом взяты препараты — отпечатки с ткани легкого, бронхов и внутренних органов. Кусочки легочной ткани, взятые для морфологических исследований, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали парафином, затем гистологические срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Препараты — отпечатки с ткани легких, взятые для цитологического исследования, окрашивали по Романовскому—Гимзе. Цитологические исследования проведены с помощью электронного бинокулярного микроскопа [18]. Морфологические исследования проведены световым микроскопом XS-213 и микроскопом фирмы "Leica".

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 7.0. Достоверность сдвигов и различий сравниваемых показателей оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

После получения модели ХОБЛ все животные были разделены на 5 групп для проведения опытов.

В 1-й группе животных с ХОБЛ ( $n = 15$ ) изучалось воздействие на проекцию легких фототерапии концентрированным импульсным светом от светолечебной установки СЛУ-2 (диапазон электромагнитного излучения 600—800 нм с частотой 30 имп/мин). Продолжительность процедуры в первые 5 дней по 5 мин, следующие 5 дней по 10 мин.

Во 2-й группе животных ( $n = 15$ ) с ХОБЛ изучалось действие имунорикса. Этот препарат вводили ежедневно *per os* по 0,07 мг/кг по 2 раза, в течение 20 дней.

В 3-й группе крыс ( $n = 15$ ) с ХОБЛ изучалось воздействие инфракрасного излучения (ИК) с помощью медицинских ламп с различным керамическим покрытием серий GI, KI, ZB [19] на область легких по 5 мин первые 5 процедур и по 10 мин в последующие 5 дней лечения.

В 4-й группе крыс ( $n = 15$ ) изучалось комплексное применение имунорикса внутрь в дозе 0,07 мг/кг 2 раза в день и ИК от ламп с керамическим покрытием (по указанной выше методике).

В 5-й группе животных с ХОБЛ ( $n = 15$ ) лечение не проводилось, изучалось течение процесса.

Сроки забоя животных: после воспроизведения модели ХОБЛ (через 45 дней), после 5—10—20 процедур и после 30 дней после действия фактора. Во всех сериях опытов проведено: этапное взвешивание животных, измерение температуры, подсчет ЧСС, ЧДД, ЭКГ.

### Результаты и обсуждение

До лечения, макроскопически при забое, легкие были местами повышенной воздушности, серо-розоватого цвета, местами ткань плотноватой консистенции, красно-синюшного цвета. Стенки бронхов утолщены, выступали над поверхностью разреза. На разрезе легочная ткань имела пеструю картину, очаги повышенной воздушности чередовались с плотными красно-синюшными участками. Морфологическая картина соответствовала изменениям при ХОБЛ. Выявлены перибронхиальная инфильтрация слизистой бронхов, отечность, сосочковая деформация стенок бронхов, очаги эмфиземы, утолщение стенок альвеол, полнокровность сосудов, участки разрушенных межальвеолярных перегородок, структуры ресничного эпителия и бокаловидных клеток (рис. 1; 2-я полоса обложки).

Микроскопически альвеолы были разной величины и формы, межальвеолярные перегородки местами утолщены, местами разрушены, выявлены очаги эмфиземы. Отмечалась деформация бронхов, в просвете десквамированный эпителий и слизисто-гнойное содержимое. Слизистая бронхов была гиперемирована, отечна, инфильтрирована лимфоцитами и единичными лейкоцитами. Гиперплазия желез слизистой оболочки, выявлена в большом количестве слизь, продуцируемая бокаловидными клетками. Также имела место лимфоцитарная инфильтрация межальвеолярной легочной ткани и выявлялись нежные прослойки соединительной ткани. Артерии, артериолы и капилляры резко расширены и полнокровны.

Цитологическая картина на препаратах-отпечатках, взятых с поверхности ткани легкого, указывала на резкое снижение активности альвеолярных макрофагов, они были мелкими без пищеварительных вакуолей с содержанием темных включений (рис. 2, 3; 2-я полоса обложки). Макрофаги 1-го ряда находились в непосредственном контакте с альвеолярной мембраной (60%). Макрофаги 2-го ряда находились вблизи от альвеолярной мембраны (30%), а 3-го ряда — вдали от альвеолярной мембраны (10%).

Через 5 и 10 процедур лечения макроскопически сохранялась пестрота легочной ткани. Легкие серо-

красно-розового оттенка, умеренной воздушности, стенки бронхов без видимых изменений.

В динамике курсового воздействия и особенно в отдаленные сроки после завершения лечения ИК и концентрированным импульсным светом выявлено положительное действие на морфологическую картину легочной ткани. Наблюдалась тенденция восстановления ресничного эпителия и бокаловидных клеток при ХОБЛ, вызванном воздействием табачного дыма (рис. 4; 2-я полоса обложки). Выявлена небольшая тенденция к улучшению морфологической картины, т. е. уменьшился воспалительный инфильтрат в паренхиме легкого. После 5 процедур лечения во всех исследуемых группах выявлена тенденция к активации макрофагов, они располагались вблизи от альвеол (57% против исходных 30%).

В 1-й группе после 10 процедур макрофаги были расположены в 1—2—3-м ряду от альвеолярной мембраны с незначительно выраженной цитоплазмой и пищеварительными вакуолями, т. е. наблюдалась тенденция к активации легочных макрофагов (рис. 5; 2-я полоса обложки).

Повторное исследование через 10 процедур по сравнению с исходными данными и контролем выявило положительную динамику морфологических и цитологических показателей. По сравнению с исходными данными в 1—3-й группах констатирована достоверная активация легочных макрофагов. Они содержали в небольшом количестве пищеварительные вакуоли и располагались вблизи от альвеол и в ткани легкого (30%). Выявлено снижение количества нейтрофильных лейкоцитов и увеличение количества лимфоцитов. Морфологическая картина легкого свидетельствовала о снижении интенсивности воспаления.

Во 2-й группе преобладали макрофаги, расположенные во 2-м и чаще в 3-м ряду с незначительно выраженными пищеварительными вакуолями (рис. 6; 2-я полоса обложки).

После 20 процедур лечения в 1—3-й группах, при отдельном применении фототерапии и иммунорикса, в микроскопических исследованиях выявили дальнейшую активацию макрофагальной функции легких (78%), тенденцию к снижению нейтрофильных лейкоцитов и интенсивности воспаления, нормализацию морфологической картины легких.

В 4-й группе при воздействии иммунорикса и фототерапии на 20-й день лечения у 2 крыс из 15 выявлены изолированные плотные образования в средостении из легочной ткани размерами 2,5 на 3,5 см с гладкой поверхностью. На разрезе визуализировалась белая плотная ткань. Морфологически ткань состояла из скопления лимфоидных клеток. На препаратах-отпечатках из ткани легкого и с очага уплотнения выявлено резкое увеличение числа лимфоцитов. Макрофаги были неактивными (89%) с мелкими оголенными зернистыми двойными ядрами, с цитоплазмой, лишенной вакуолей. Обнаружена тетраплоидная клетка.

В отдаленные сроки через 30 дней после прекращения лечения и воздействия табачного дыма в 1—3-й группах в препаратах легких у крыс наблю-

далась выраженная активация макрофагов с обилием пищеварительных вакуолей с расположением их в ткани легкого (98%). Просвет большинства (95%) бронхов приобретал нормальные очертания, гофрированность, деформации стенок бронхов выравнивались, слизи, продуцирующих бокаловидных клеток стало меньше. Слизистая оболочка бронхов и паренхима органа были инфильтрированы лишь единичными лимфоцитами. Во всех группах, кроме 4-й, по сравнению с группой контроля наблюдалось снижение интенсивности воспаления с активацией макрофагов легочной ткани у животных с ХОБЛ. В 4-й группе выявлялись лимфоидная реакция и появление единичных тетраплоидных клеток.

В 5-й контрольной группе наблюдалась макрофагальная реакция, макрофаги были единичными, неактивными и располагались в 1—2-м ряду от альвеол ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, при ХОБЛ выявлено одностороннее действие методов дозированной фототерапии и приема препарата иммунорикса. Установлена стимуляция макрофагальной функции легочной ткани при отдельном применении фототерапии и иммунорикса. Комплексное применение фототерапии и иммунорикса вызывает лимфоцитарную реакцию в виде плотного скопления лимфоцитов в легочной ткани, угнетение макрофагальной активности легочной ткани с образованием тетраплоидных клеток, в связи с чем рекомендуется ограничить воздействие фототерапии при приеме иммунорикса во время ХОБЛ, вызванной хроническим воздействием табачного дыма, что необходимо учитывать в клинической практике.

## Заключение

Цитологический контроль позволил установить однотипную активацию подавленного под воздействием табачного дыма клеточного защитного механизма после дозированного воздействия красного и инфракрасного спектра света на воспалительный процесс в эксперименте.

Установлено, что комбинированное применение двух иммуностимуляторов (иммунорикса и фототерапии вне зависимости от спектра света) бурно активизирует лимфоцитарную клеточную реакцию.

Рекомендуется ограничить воздействие фототерапии при приеме иммунорикса во время ХОБЛ, вызванной хроническим воздействием табачного дыма, что необходимо учитывать в клинической практике. Для иммуностимуляции рекомендуется отдельное применение иммунорикса или фототерапии в комплексной базисной терапии респираторных болезней. Комплексное применение иммуномодулятора и дозированной фототерапии требует дальнейшего исследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г. *Болезни легких курящего человека*. М.; 1998: 5—13.
2. Визель И.Ю., Пронина Е.Ю., Визель А.А. Патогенетическая терапия хронической обструктивной болезни легких: поиск решений. *Consilium medicum*. 2010; 12 (11): 43—6. Available at: [http://consilium.ru/magazines/consilium\\_medicum/213215/213177/?sphrase\\_id=30181](http://consilium.ru/magazines/consilium_medicum/213215/213177/?sphrase_id=30181).

3. Barnes P.J. ABC of chronic pulmonary disease. Future treatments. *Br. Med. J.* 2006; 333: 246—8.
4. Караулов А.В., Ликов В.Ф. *Иммунотерапия респираторных заболеваний*. М.: 2004.
5. Козлов И.Г., Тимаков М.А. Иммуноterapia: вчера, сегодня, завтра. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. 2009; 87 (4): 140—9.
6. Суркова Е.А., Кузубова Н.А., Сесь Т.П., Тополян Арег А. Особенности цитокиновой регуляции очагового и системного воспаления при хронической обструктивной болезни легких. *Медицинская иммунология*. 2010; 12 (4—5): 340—54.
7. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. *Иммунология: атлас*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
8. Ярилин А.А. *Иммунология: учебник*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
9. Намазова Л.С., Волков К.С., Торшхоева Р.М., Алексеева А.А. Новые возможности иммуномодулирующей терапии часто болеющих детей. *Педиатрическая фармакология*. 2008; 5 (2): 12—20.
10. Егоров А.Н., Игнатова Г.Л., Алтынбаева Е.И., Родионова О.В., Теплова С.Н. Клинико-иммунологическая эффективность иммуномодуляторов топического и системного действия при хроническом простом бронхите и хронической обструктивной болезни легких. *Лечащий врач*. 2011; 9: 11.
11. Хорошилова Н.В. Имунорикс (пидотимод): новые возможности иммунотерапии. Available at: <http://www.pediatrjournal.ru/MagazinArticles/9164/129.pdf>
12. Хазратов У.Х. *Реабилитация больных на ранних стадиях хронической обструктивной болезни легких*: дисс. канд. мед. наук. Ташкент; 2009.
13. Рахимова Д.А. *Влияние комплексного воздействия концентрированного импульсного света и электрофореза бишофита при лечении больных хронической обструктивной болезнью (клинико-экспериментальное исследование)*: дисс. Ташкент; 2004.
14. Садыкова Г.А., Арипов Б.С., Таджиходжаева Ю.Х. *Гелио-фототерапия на вооружении врача. Методические рекомендации*. Ташкент; 2011.
15. Бродская Т.А., Невзорова В.А., Гельцер Б.И. Экспериментальное моделирование хронической обструктивной болезни легких с табакокурением и проявления сосудистой дисфункции. *Бюллетень СО РАМН*. 2009; 1: 60—5.
16. Тухтаев К.Р., Шукуров Р.А. Особенности морфологических изменений легких и печени в динамике хронического табакокурения. *Патология*. 2005; 2: 15—7.
17. Joos G.F. Cigarette smoke in mice, rats and guinea-pigs: value to the study of pathogenic factors involved in COPD. *Experimental Models for COPD and Asthma*. Copenhagen; 2005: 9—38.
18. Наджимитдинов С.Т., Садыкова Г.А., Имамова Б.Дж. *Новый способ получения препаратов - отпечатков. Методические рекомендации*. Ташкент; 2003.
19. Рахимов Р.Х. Принцип действия и области применения керамического излучателя. В кн.: *INFRA-2000*. Ташкент; 2000; 28—45.
3. Barnes P.J. ABC of chronic pulmonary disease. Future treatments. *Br. Med. J.* 2006; 333: 246—8.
4. Karaulov A.V., Likov V.F. *Immunotherapy of respiratory diseases. [Immunoterapiya respiratornykh zabolevaniy]*. Moscow; 2004 (in Russian).
5. Kozlov I.G., Timakov M.A. Immunotherapy: yesterday, today, tomorrow. *Pediatriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo*. 2009; 87 (4): 140—9 (in Russian).
6. Surkova E.A., Kuzubova N.A., Ses' T.P., Topolyan Areg A. Features of cytokine's regulation of a focal and system inflammation at COPD. *Meditsinskaya immunologiya*. 2010; 12 (4—5): 340—54 (in Russian).
7. Khaitov R.M., Yarilin A.A., Pinegin B.V. *Immunology: atlas. [Immunologiya: atlas]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (in Russian)
8. Yarilin A.A. *Immunology: textbook. [Immunologiya: uchebnik]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian).
9. Namazova L.S., Volkov K.S., Torshkhoeva R.M., Alekseeva A.A. New opportunities of immunomodulating therapy of often ill children. *Pediatricheskaya farmakologiya*. 2008; 5 (2): 12—20 (in Russian).
10. Egorov A.N., Ignatova G.L., Altylnbaeva E.I., Rodionova O.V., Teplova S.N. Clinical and immunological efficiency of immunomodulators of topical and system action at chronic simple bronchitis and a chronic obstructive illness of lungs. *Lechashchiy vrach*. 2011; 9: 11 (in Russian).
11. Khoroshilova N.V. Imunorix (pidotimod): new means of immunotherapy. Available at: <http://www.pediatrjournal.ru/MagazinArticles/9164/129.pdf> (in Russian).
12. Khazratov U.Kh. *Rehabilitation of patients at early stages of a chronic obstructive illness of lungs. [Rehabilitatsiya bol'nykh na rannikh stadiyakh khronicheskoy obstruktivnoy bolezni legkikh]*. Diss. Tashkent; 2009 (in Russian).
13. Rakhimova D.A. *Influence of complex influence of concentrated pulse light and electrophoresis bischofite at treatment of patients by a chronic obstructive illness (a clinical and pilot study). [Vliyaniye kompleksnogo vozdeystviya kontsentririrovannogo impul'snogo sveta i elektroforeza bishofita pri lechenii bol'nykh khronicheskoy obstruktivnoy boleznyu (kliniko-eksperimentalnoye issledovanie)]*: diss. Tashkent; 2004 (in Russian).
14. Sadykova G.A., Aripov B.S., Tadzhihodzhaeva Ju.H. *Heliotherapy and phototherapy on doctor's service. Recommendations guide. [Gelio-fototerapiya na vooruzhenii vracha. Metodicheskie rekomendatsii]*. Tashkent; 2011: 22 (in Russian).
15. Brodskaya T.A., Nevzorova V.A., Gel'tser B.I. *Experimental modeling of chronic obstructive pulmonary disease with tobacco and manifestations of vascular dysfunction. Newsletter. Bulletin' SORAMN*. 2009; 1: 60—5 (in Russian).
16. Tukhtaev K.R., Shukurov R.A. Features of morphological changes of lungs and a liver in the dynamics of chronic tobacco smoking. *Patologiya*. 2005; 2: 15—7 (in Russian).
17. Joos G.F. Cigarette smoke in mice, rats and guinea-pigs: value to the study of pathogenic factors involved in COPD. *Experimental Models for COPD and Asthma*. Copenhagen; 2005: 9—38.
18. Nadzhimitdinov S.T., Sadykova G.A., Imamova B.J. *New way of obtaining copies of the preparations. Recommendations guide. [Novyi sposob polucheniya preparatov-otpechkov. Metodicheskie rekomendatsii]*. Tashkent; 2003 (in Russian).
19. Rakhimov R.H. Ceramic oscillator action and range of application. In: *INFRA-2000*. Tashkent; 2000 (in Russian).

## REFERENCES

Поступила 12.05.14

Received 12.05.14