

Ю.С. Ландышев, С.С. Целуйко, Н.А. Щербань

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

*Амурская государственная медицинская академия,
675000, ул. Горького, 95, тел.: 8(4116)-52-68-28, e-mail: agma@amur.ru, г. Благовещенск*

Резюме

В статье представлены результаты морфологического исследования респираторной системы крыс с экспериментальной моделью хронической почечной недостаточности (ХПН). Установлено значение нарушений легочной микроциркуляции в развитии фибротических процессов в интерстициальной ткани легких при ХПН. Выявлены положительные эффекты длительного использования дигидрокверцетина у крыс с экспериментальной ХПН, выражающиеся в замедлении темпов прогрессирования патологических процессов в бронхолегочной системе.

Ключевые слова: респираторная система, хроническая почечная недостаточность, пневмофиброз, дигидрокверцетин.

Y.S. Landyshev, S.S. Tseluyko, N.A. Shcherban

THE MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE RESPIRATORY SYSTEM IMPAIRMENT IN CHRONIC RENAL INSUFFICIENCY (EXPERIMENTAL RESEARCH)

The Amur state medical academy, Blagoveshchensk

Summary

In the article the results of morphological research of respiratory system of rats with experimental model of chronic renal insufficiency (CRT) are presented. Value of the broken pulmonary microcirculation in development of fibrosis processes in an interstitial tissue of lungs in CRI is established. Positive effects of long use of Dihydroquercetini in rats with experimental CRI are revealed. They are expressed in retardation of pathological processes in the respiratory system.

Key words: respiratory system, chronic renal insufficiency, pneumofibrosis, dihydroquercetin.

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) представляет серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему. Это определяется как неуклонным ростом числа больных ХПН, так и высокой стоимостью лечения и неблагоприятным трудовым прогнозом [3].

Поражение бронхолегочной системы при ХПН является следствием ряда причин, среди которых наиболее часто выделяют уремическую интоксикацию, нарушение водно-электролитного баланса, костно-минерального обмена, развитие сопутствующей сердечной недостаточности, иммунологические нарушения, хотя существует ряд других механизмов, которые в настоящее время остаются недостаточно изученными [7].

В ряде исследований было показано, что длительное течение ХПН приводит к развитию фиброзных изменений в интерстициальной ткани легких, значительному снижению их диффузионной способности и возникновению гипоксемии, которая только у 20% пациентов поддается коррекции достижением целевого уровня гемоглобина [5, 6].

В последние годы значительная роль в прогрессировании ХПН отводится оксидативному стрессу, однако остается неосвещенным вопрос о его влиянии на формирование патологических процессов в бронхолегочной системе у нефрологических больных [4, 8].

Препараты, обладающие способностью подавлять свободнорадикальные реакции, немногочисленны, и большинство из них не лишены побочных эффектов, что недопустимо при снижении выделительной функции почек [9]. Оптимальным средством, используемым при ХПН, должно быть вещество, обладающее максимальным терапевтическим эффектом при минимальной токсичности [2]. В качестве такого средства нами был выбран дигидрокверцетин — биофлавоноид, содержащийся в экстрактах древесины лиственницы сибирской и лиственницы даурской. Кроме высокой антиоксидантной активности дигидрокверцетин обладает ангиопротективным, регенерирующим, мембраностабилизирующим эффектами [1].

Целью исследования явилось изучение влияния антиоксидантной терапии на выраженность структурных изменений легочной ткани у крыс с экспериментальной моделью ХПН.

Материалы и методы

Экспериментальная модель ХПН была создана на 24 белых нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180-220 г методом субтотальной нефрэктомии. Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам

биологической этики, изложенным в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18.03.1986 г.), Приказе Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

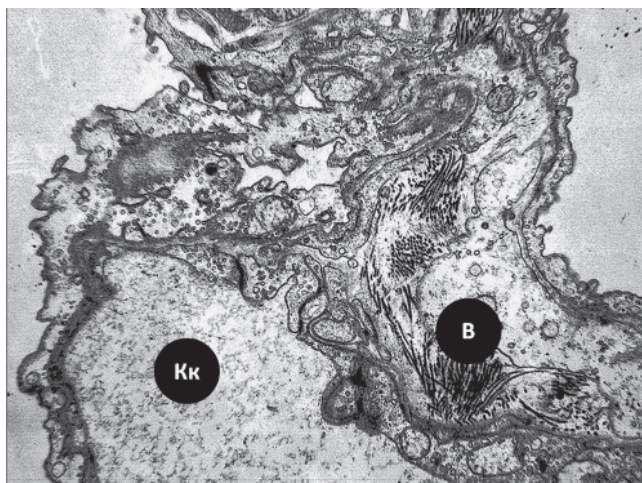


Рис. 1. Стенка альвеолы легкого крысы через 12 нед. после резекции левой почки и правосторонней нефрэктомии. Просвет кровеносных капилляров (Кк) расширен, имеет различный размер и окружен пучками многочисленных волокон (В), имеющих различные направления. Заливка: аралдит-эпон; окраска: уранилацетат, цитрат свинца; увеличение: $\times 10\,000$.

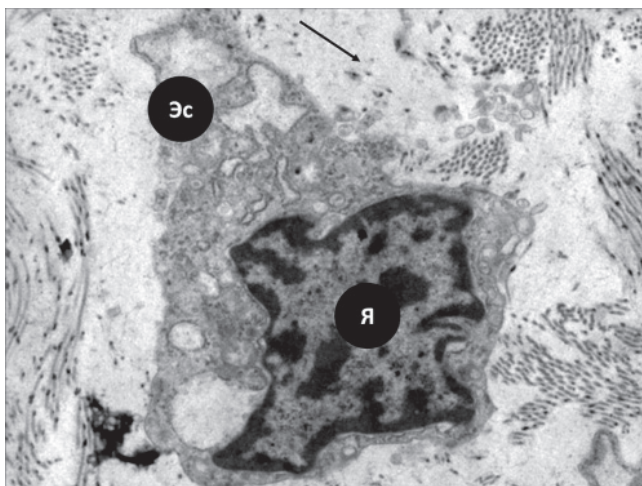


Рис. 2. Перибронхиальная соединительная ткань легкого крысы через 12 нед. после резекции левой почки и правосторонней нефрэктомии на фоне введения дигидрокверцетина. Фибробласт имеет изрезанные контуры ядра. Хроматин, в виде узкого пояса, располагается по периферии ядра. Хорошо контурируется ядрышко (Я). Канальцы эндоплазматической сети (Эс) очагово расширены. Вокруг клетки видны тонковолокнистые структуры (↑). Заливка: аралдит-эпон; окраска: уранилацетат, цитрат свинца; увеличение: $\times 12\,000$.

Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария Амурской государственной медицинской академии, при естественном световом режиме без ограничения доступа к воде и пище.

При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили с соблюдением требований гуманности согласно приложению № 4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к Приказу Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977) о «Порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)» путем декапитации. Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии. Операция субтотальной нефрэктомии выполнена 19 животным и производилась в два этапа. На первом этапе под общей

анестезией выполнялась типичная нефрэктомия справа. Второй этап проводился через 2 нед., при этом под общей анестезией выполнялась резекция верхнего и нижнего полюсов левой почки.

1 группа — 10 крыс с экспериментальной моделью ХПН, в лечении которых использовалось пероральное введение дигидрокверцетина из расчета 1,6 мг/кг в сут.

2 группа — 9 крыс с экспериментальной моделью ХПН, не получавших лечение дигидрокверцетином.

Контрольную группу составили 5 здоровых крыс.

Гистоморфологическое исследование легких и бронхов у крыс проводилось через 12 нед. после второго этапа оперативного вмешательства.

Полутонкие срезы получали на ультрамикротоме «ЛКВ-NOWA» с последующей окраской метиленовым синим. Микроскопирование и фотографирование осуществлялось на фотомикроскопе «Microphot-FXA» (фирма «Nikon», Япония) при увеличениях $\times 25$, 50, 150, 250 (иммерсия). Ультратонкие срезы изучали с помощью электронного микроскопа «Tecnai G2 Spirit TWIN» (фирма «FEI Company», Нидерланды) после предварительного окрашивания уранилацетатом и цитратом свинца.

Результаты исследования

Для подтверждения развития ХПН у крыс определялся уровень мочевины и креатинина крови, полученной из шейных вен животных после выведения из эксперимента.

ХПН, развившаяся после проведения субтотальной нефрэктомии, приводила к значительным изменениям как в бронхиальном дереве, так и в респираторном отделе. В субсегментарных и внутривидольных бронхах выявлялась значительная гипертрофия гладкомышечных клеток, между которыми увеличивалось межклеточное пространство, вероятно, в результате отека. В перибронхиальной ткани появлялись крупные липидные капли. Часть кровеносных сосудов была расширена, другие находились в спавшемся состоянии, отмечался периваскулярный отек. В некоторых участках определялось уплотнение соединительной ткани, особенно около спавшихся кровеносных сосудов. В перибронхиальной соединительной ткани зрелые фибробласты располагались между пучками коллагеновых волокон, в их цитоплазме выявлялись многочисленные вакуоли.

Часть бронхов находилась в спавшемся состоянии, у других просвет был резко расширен. Зоны инфильтрации в бронхах имели в основном очаговую локализацию. Отмечались единичные ателектазы, часть альвеол была заполнена жидкостью. Стенки альвеол утолщались за счет значительного числа коллагеновых волокон, имеющих различное направление, расположенных обычно вокруг кровеносных капилляров (рис. 1). Иногда наблюдалось значительное набухание эндотелиоцитов, и тогда их ядро содержащая часть практически закрывала просвет капилляров.

Выявлялись многочисленные форменные элементы крови в просвете капилляров альвеол, а вокруг них зоны инфильтрации из лимфоцитов и макрофагов. Вокруг кровеносных сосудов выявлялся периваскулярный отек, а в ряде случаев — выраженная диффузная либо очаговая инфильтрация лимфоцитами и макрофагами. Реакция на гликозаминогликаны повышалась в перибронхиальной соединительной ткани и в кровеносных сосудах,

вокруг которых выявлялся периваскулярный отек. Резко положительная реакция на ШИК-положительные вещества определялась в стенке бронхиальных сосудов и в межальвеолярных перегородках. Особенно большое число ШИК-положительных гранул отмечалось в гипертрофированных гладкомышечных клетках средней оболочки артерий. В зоне периваскулярного отека ШИК-положительные вещества имели очаговую локализацию.

На фоне введения дигидрокверцетина несколько снижались структурные изменения в стенке внутридолевых бронхов по сравнению со 2 группой животных. Выявлялась очаговая складчатость слизистой оболочки, в этих участках гладкомышечные клетки были гипертрофированы. В перибронхиальной соединительной ткани участки уплотнения чередовались с зонами мукоидного набухания. Здесь в основном выявлялись юные фибробласты, имеющие расширенные канальца эндоплазматической сети и ядра обычно неправильной формы. Волокна, окружающие фибробласт, находились друг от друга на значительном расстоянии (рис. 2).

В респираторном отделе форма и размер альвеол варьировала, часть из них сохраняла обычный план строения, встречались эмфизематозные зоны. У большей части альвеол стенка была утолщена, в ней находились эластические волокна, число и размер которых был различен. Выявлялась гипертрофия альвеолоцитов. Лимфоидная инфильтрация в респираторном отделе имела очаговую локализацию, макрофаги встречались редко. В части бронхиальных сосудов выявлялся периваскулярный отек, здесь реакция на ШИК-положительные вещества была выражено слабо. Реакция на гликозаминогликаны достоверно уменьшалась в перибронхиальной соединительной ткани, в крупных кровеносных сосудах она сохранялась на довольно высоком уровне. В стенке альвеол содержание гликозаминогликанов было умеренным и имело очаговую локализацию.

Таким образом, при длительной почечной недостаточности применение дигидрокверцетина снижает уровень структурных изменений в бронхиальном дереве и в респираторном отделе легкого. Процессы склеротизации в периваскулярной и перибронхиальной тканях у крыс, получавших дигидрокверцетин, менее выражены, чем у крыс 2 группы, что проявляется сниженной интенсивностью реакции на гликозаминогликаны и ШИК-положительные вещества в бронхиальных сосудах и сосудах микроциркуляторного русла стенок альвеол, небольшими зонами клеточной инфильтрации, менее значительным периваскулярным отеком. Введение дигидрокверцетина позволяет сохранить в респираторном отделе обычный план строения большей части альвеол.

Выводы

1. При ХПН происходят выраженные структурные изменения в интерстициальной ткани легких, характеризующиеся развитием микрогемоциркуляторных нарушений с последующей реорганизацией межтканевого вещества в соединительную ткань.

2. Введение экспериментальным животным дигидрокверцетина способствует уменьшению микрососудистых и капиллярных нарушений, что приводит к снижению выраженности склеротических процессов в легочной ткани.

Л и т е р а т у р а

1. Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Ребров Л.Б. Механизм ингибирующего действия дигидрокверцетина на процесс пероксидного окисления фосфолипидов мембран // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. - 2003. - №6. - С. 37-43.

2. Boaz M., Smetana S., Weinstein T. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end-stage renal disease (SPACE): randomized placebo-controlled trial // Lancet. - 2000. - Vol. 356. - P. 1213-1218.

3. Go A.S. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization // N. Engl. J. Med. - 2004. - Vol. 351. - P. 1296-1305.

4. Massy Z.A., Nguyen-Khoa T. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management // J. Nephrol. - 2002. - Vol. 15. - P. 336-341.

5. Pierson D.J. Respiratory considerations in the patient with renal failure // Respir. Care. - 2006. - Vol. 51, №4. - P. 413-422.

6. Senatore M., Buemi M., Di Somma A., Sapio C. Respiratory function abnormalities in uremic patients // G. Ital. Nefrol. - 2004. - Vol. 21, № 1. - P. 29-33

7. Siems W., Quast S., Carluccio F. Oxidative stress in chronic renal failure as a cardiovascular risk factor // Clin. Nephrol. - 2002. - Vol. 58, № 1. - P. 12-19.

8. Siwik D. A. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts // Am. J. Physiol. - 2001. - Vol. 280. - P. 53-60.

9. Vaziri N.D., Dicus M., Ho N.D. Oxidative stress and dys-regulation of superoxide dismutase and NADPH dismutase in renal insufficiency // Kidney Int. - 2003. - Vol. 63. - P. 179-185.

Координаты для связи с авторами: Ландышев Юрий Сергеевич — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии, засл. деятель науки РФ, тел.: 8(4162)-42-94-19; Целуйко Сергей Семенович — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, тел.: 8(4162)-52-52-56; Щербань Наталья Анатольевна — канд. мед. наук, ассистент кафедры пульмонологии, тел.: 8-962-718-77-61, e-mail: scherbann@mail.ru.

