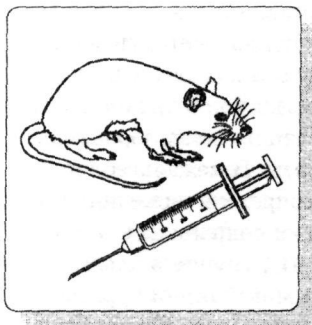




УДК 616.24 - 002.5 - 091.8 - 001.6

И.Ю. Макаров, А.А. Григоренко

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ У КРЫС, ЗАРАЖЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА

Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск

Мультирезистентный туберкулез — возрастающая опасность для здоровья людей во всем мире. Новейшие данные подтверждают, что туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) становится основной причиной заболеваемости, появления деструктивных остро прогрессирующих форм и высокой смертности [4, 5, 7, 9]. Большое внимание уделяется появлению лекарственно-устойчивого туберкулеза как результата неадекватной противотуберкулезной химиотерапии [6, 8]. Вышеуказанное объясняет возросший интерес к изучению особенностей возбудителя заболевания, патогенеза, морфологических и клинических проявлений, особенностей лечения МЛУ туберкулеза.

Основным звеном в патогенезе туберкулеза является снижение иммунитета. Состояние иммунной системы определяет не только возможность развития туберкулеза, но и характер туберкулезного процесса. Именно поэтому изучение эффективности различных иммуномодуляторов при комплексном лечении больных туберкулезом является актуальным. Большой интерес представляет, в сравнении с другими цитокинами первой фазы иммунного ответа, комплексный препарат интерферона лейкоинтерферон для инъекций. Лейкоинтерферон обладает мощным иммунокорригирующим действием и снимает явления вторичных иммунодефицитов не только при вирусных, но и при бактериальных заболеваниях, в том числе и при туберкулезе [3].

Целью работы было изучение особенностей гистологии и цитологии легких белых крыс, зараженных мультирезистентным возбудителем туберкулеза и подвергнутых комплексной этиотропной терапии с применением иммуномодулятора лейкоинтерферона.

Материалы и методы

Эксперимент проводили на 100 белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. Всех животных разделили на 4 равные группы. Три группы крыс (1, 2, 3) заражали 20-дневным мультирезистентным штаммом микобактерий туберкулеза, полученным от больного фиброзно-кавернозным туберкулезом, и одну группу (4 группа — группа сравнения для 1 группы) — стандартным вирулентным штаммом H37Rv из расчета 1 мг бактериальной массы в 0,2 мл физиологического раствора натрия хлорида на животное. Суспензии вводили в легкое. Для удобства заражения и безопасности крысам давали легкий эфирный наркоз (животных помещали в банку с ватой, пропитанной эфиром, герметично закупоривали ее и выдерживали в течение 1-2 мин).

Резюме

Проведено сравнительное патоморфологическое исследование легких белых крыс, зараженных мультирезистентным штаммом микобактерий туберкулеза и лабораторным штаммом H37Rv. В первом случае изменения в легких характеризуются большим объемом поражения с преобладанием альтеративно-экссудативных процессов. Иммуномодулятор лейкоинтерферон, применяемый в комплексе с противотуберкулезными препаратами, оказывает положительное влияние на течение заболевания, способствует более быстрому восстановлению структуры легочной ткани.

I.Yu. Makarov, A.A. Grigorenko

COMPARATIVE ESTIMATION OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN LUNG AT RATS ON MODEL OF AN EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS

The Amur state medical academy, Blagoveshchensk

Summary

Have carried out comparative pathomorphologic research of the easy white rats infected multiresistant shtamm micobacterium of a tuberculosis and laboratory shtamm H37Rv. In the first case of change in easy are characterized by great volume of defeat with prevalence alteration and exsudatio processes. Immunomodulator leukinferon used in a complex with antitubercular preparations renders positive influence on current of disease, promotes faster restoration of structure lung to a fabric.

Через 2 нед. после заражения было начато лечение резервными противотуберкулезными препаратами: животным 2 и 3 групп ежедневно с кормом до конца эксперимента давали рифабутин в дозе 5 мг на кг массы тела, изониазид 10 мг/кг, протионамид 12,5 мг/1 кг, пиразинамид 25 мг/кг. В комплексе с противотуберкулезными препаратами крысам 3 группы вводили лейкоинтерферон подкожно в дозе 2500 МЕ дважды в неделю в течение 2 мес. Животные 1 и 4 групп лечение не получали (1 группа сравнения для 2 и 3 групп).

Через 1,5 и 3,5 мес. животных выводили из эксперимента при помощи глубокого эфирного наркоза с последующей дислокацией шейных позвонков. Кусочки легких, предназначенные для гистологических исследований, фиксировали в 10% забуферном формалине. По общепринятой методике готовили парафиновые блоки, срезы из которых окрашивали гема-

токсидином и эозином по Ван Гизону, шиф-реактивом. Для проведения морфометрического исследования применяли окулярную сетку для цитогистореометрических исследований со 100 и 25 равноудаленными точками, с помощью которой определяли относительный объем пораженной легочной ткани и удельную плотность лимфонодулей. Для цитологического исследования готовили мазки-отпечатки из легких. Продольным движением без надавливания мазки наносили на обезжиренные стекла, высушивали, фиксировали в смеси Никифорова 10 мин и окрашивали в течение 30 мин по Циллю-Нильсену и Романовскому-Гимзе. При увеличении $\times 1000$ определяли микробную обсемененность микобактериями в поле зрения микроскопа.

Результаты исследований

При гистологическом исследовании у животных 1 группы через 1,5 мес. после заражения в легких определялась субтотальная интерстициальная пневмония с эпителиоидно-клеточными гранулемами, состоящими из светлых пенистых макрофагов, лимфоцитов и единичных многоядерных клеток. Межальвеолярные перегородки были инфильтрированы лимфоцитами, гистиоцитами и нейтрофилами. Объемная плотность очагов поражения составила $72,2 \pm 5,4\%$. Воздушность легких была резко снижена. В мазках-отпечатках во многих макрофагах отчетливо видны типичные палочковидные микобактерии, расположенные большими скоплениями, реже — единичные. Аналогичная гистологическая картина наблюдалась в легких крыс 4 группы, зараженных штаммом H37Rv, но у животных 1 группы объем поражения легочной ткани был достоверно больше ($p < 0,05$) с преобладанием лимфоидно-макрофагальной инфильтрации. При цитологических исследованиях выявлялись альвеолярные макрофаги, содержащие в своей цитоплазме нежные изогнутые палочки, расположенные преимущественно поодиночке или комплексами, состоящими из нескольких микобактерий: микробная обсемененность в поле зрения в 1 группе была достоверно больше ($p < 0,05$).

Через 1,5 мес. лечения животных 2 группы антибактериальными препаратами воздушность легких частично восстановилась за счет снижения количества и уменьшения площади очагов поражения. Цитологически в альвеолярных макрофагах обнаруживали скопления микобактерий. В эти же сроки на фоне терапии противотуберкулезными препаратами в комбинации с лейкинфероном (3 группа) объем поражения легочной ткани составил $31,6 \pm 3,3\%$ и был достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в группе, не получавшей лечение. На фоне эмфизематозно измененных альвеол отмечалась лимфоидно-макрофагальная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Инфильтраты по периферии туберкулезных бугорков были представлены преимущественно светлыми пенистыми макрофагами и единичными многоядерными клетками. В мазках-отпечатках обнаруживали немногочисленные скопления микобактерий.

Через 3,5 мес. от начала эксперимента в группах 1 и 4, не получавших лечения, в легочной ткани сохранялась субтотальная интерстициальная пневмония. В 1

группе объем поражения составил $74,80 \pm 5,23\%$, в легких появлялись мелкие множественные очаги поражения с явлениями некробиоза и казеоза в центре и обильной лимфоидно-макрофагальной инфильтрацией по периферии, периваскулярные и перибронхиальные лимфоидные инфильтраты. В межальвеолярных перегородках и интерстиции определялись единичные лимфонодулы. Цитологически сохранялась высокая микробная обсемененность. В 1 группе в альвеолярных макрофагах выявлялись микобактерии, расположенные большими скоплениями, микробная обсемененность легких составила $66,80 \pm 5,39$ и достоверно превышала показатели 4 группы. У животных, группу которых лечили одними противотуберкулезными препаратами, через 3,5 мес. объем поражения легочной ткани стал значительно меньше ($p < 0,05$), чем в предыдущий срок наблюдения, и составил $24,5 \pm 3,1\%$. Уменьшились размеры туберкулезных очагов на фоне восстановления воздушности легочной ткани. Сохранялась умеренно выраженная лимфоидно-макрофагальная инфильтрация интерстиция. В группе, получавшей антибактериальные препараты в комбинации с лейкинфероном, через 3,5 мес. отмечали более интенсивное рассасывание очагов воспаления. Воздушность легочной ткани восстановилась в большей степени, чем в группе, получавшей только антибактериальные препараты ($p < 0,05$). Отмечалась выраженная периваскулярная инфильтрация лимфоидными элементами, переполнение сосудов лимфоцитами. Количество лимфонодулей в интерстициальной ткани в 3 группе составляло $4,32 \pm 0,65$ и достоверно ($p < 0,01$) превышало показатели 1 и 2 группы. Цитологическое исследование у животных этой группы свидетельствовало о значительном снижении показателей микробного обсеменения легких ($12,50 \pm 1,43$) и достоверном ($p < 0,001$) отличии от группы сравнения.

Заключение

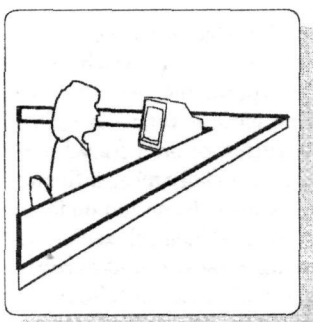
Полученные нами экспериментальные данные показали, что в группах животных, зараженных микобактериями с МЛУ, морфологические изменения в легких характеризуются большим объемом поражения с преобладанием альтеративно-экссудативных реакций, появлением очагов казеоза. При цитологическом исследовании в этих группах отмечается более высокая микробная обсемененность легких с обильным образованием внутриклеточных колоний микобактерий в макрофагах и формированием зернистых форм. Если учесть, что объем пораженной легочной ткани прямо пропорционален дозе заражения и вирулентности той или иной культуры МБТ [2], то вышеизложенные результаты эксперимента свидетельствуют о более высоких вирулентных свойствах микобактерий с МЛУ по отношению к штамму H37Rv. Применяемый в эксперименте лейкинферон, в комбинации с противотуберкулезными препаратами резервного ряда при длительном лечении туберкулеза с МЛУ, способствует интенсивному рассасыванию очагов воспаления в легких, значительной пролиферации лимфоцитов, снижению микробной обсемененности легких. Выявленные нами изменения в легких при заражении высоковирулентными штаммами микобактерий можно рассматривать как мор-

фологический эквивалент реакции иммунологического торможения (иммунодепрессии) [1]. В связи с этим положительные экспериментальные результаты применения лейкинферона обосновывают целесообразность использования иммуномодуляторов в комплексном лечении остро прогрессирующих форм туберкулеза у больных, выделяющих микобактерии с МЛУ.

Л и т е р а т у р а

1. Васильева С.Н., Виноградова Т.И., Сухов Ю.З. // Мат-лы VII Рос. съезда фтизиатров. М., 2003. С. 64.
2. Васильева С.Н., Виноградова Т.Н., Кацер А.Р. и др. // Мат-лы VII Рос. съезда фтизиатров. М., 2003. С. 82.

3. Волкова Л.В., Кузнецов В.П. // Антибиотики и химиотерапия. 2002. Т. 47. №11. С. 30-37.
4. Голанов В.С., Богдалова В.Е., Андреев Л.П. и др. // Проблемы туберкулеза. 1991. №12. С. 27-28.
5. Стрелис А.К. // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. 2001. №2. С. 20, 29-30.
6. Тунгусова Н.С., Сандвен П., Марьяндышев А.О. // Экология человека. 2001. №3. С. 21-24.
7. Dye C., Williams B.G., Espinal M.A. et al. // Science. 2002. Vol. 295, P. 2042-2046.
8. Iseman M.D. // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 1998. Vol. 2, №1. P. 867-872.
9. Sudre P., Cohn D.L. // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 1998. Vol. 2, №8. P. 609-611.



УДК 611.24 - 018.2 - 091.8

Н.П. Красавина, С.С. Целуйко, В.А. Доровских, Л.С. Корнеева

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ЛЕКТИНОВ В СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ НА ФОНЕ ИНФРАКРАСНОГО ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск

Актуальной проблемой настоящего времени является поиск новых, качественных критериев для оценки структурных и метаболических изменений органов и тканей в условиях патологии. Один из современных методов изучения клетки — это применение меченых лектинов, специфически связывающихся с углеводными детерминантами клеточной поверхности [1, 3, 5, 6, 8]. В основе метода лежит образование молекулярных комплексов углеводов с белком, при этом специфичность взаимодействия определяется структурой активного центра лектина [2]. Все лектины являются поливалентными лигандами, т.е. в молекуле имеется несколько центров связывания углеводов, что обуславливает агглютинацию клеток и частиц, а также преципитацию гликопротеидов. Обладая более широкой специфичностью, лектины дают возможность дифференцировать углеводсодержащие биополимеры в цитоплазме и цитолемме клеток, а также в остальных структурах соединительной ткани. Исходя из того, что в составе межклеточного вещества рыхлой соединительной ткани одними из основных являются N-ацетилглюкозамин и N-ацетилгалактозамин, мы в своей работе применяли специфичные к данным веществам лектины: из клубней

картофеля (STA — специфичен к N-ацетил-Д-глюкозамину), из зародышей пшеницы (WGA — специфичен к N-ацетил нейраминной кислоте и N-ацетил-Д-глюкозамину), из виноградной улитки (HPL — специфичен к N-ацетил-Д-галактозамину).

Материалы и методы

Исследования проведены на интактных и трех группах экспериментальных животных. В первой группе проводили охлаждение в климатоканере при температуре 15°C в течение 15 дн. по 3 ч ежедневно. Вторая группа животных ежедневно подвергалась воздействию импульсного инфракрасного лазера с длиной волны 0,85-0,9 мкм, суммарная доза воздействия составила 7,8 Дж/см². Третью группу животных на фоне общего охлаждения облучали инфракрасным лазером (методика аналогична второй группе). Материалом для исследования была каудальная доля правого легкого. Для выявления рецепторов к лектинам применяли непрямой метод, то есть срезы, наклеенные на стекло с помощью поли-L-лизина, обрабатывали лектином, а далее меткой, имеющей сродство к данному лектину (конъюгат тиреоглобулин-пероксидаза). В работе использовали препараты лектинов: клубней картофеля,