

ISSN 0365-9615  
Электронная версия  
ISSN 2413-1008

**БЮЛЛЕТЕНЬ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
БИОЛОГИИ  
И МЕДИЦИНЫ**

**4**  

---

**2016**

# ДИНАМИКА СТРУКТУРНЫХ ПАРАМЕТРОВ И НАКОПЛЕНИЯ КОЛЛАГЕНОВЫХ ФИБРИЛЛ В ЛЕГКОМ КРЫС ПОСЛЕ ИНГАЛЯЦИЙ СУРФАКТАНТА-БЛ В РАЗНЫЕ СРОКИ РАЗВИТИЯ БЛЕОМИЦИНОВОГО АЛЬВЕОЛИТА

В.А.Волчков, В.Ф.Дубровская, А.А.Валькович, О.В.Клестова,  
В.А.Сержанина, А.Г.Жуйков, А.А.Сейлиев, О.А.Розенберг

*ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Минздрава РФ, Санкт-Петербург*

Крыс ингалировали сурфактантом-БЛ в ранний и отсроченный период развития блеомицинового альвеолита. Препарат ослаблял тяжесть воспаления при обоих вариантах введения. Лечебный эффект в острой фазе процесса сочетался с усилением синтеза тонких, рыхло расположенных коллагеновых фибрилл. После ингаляций в отсроченный период развития альвеолита наблюдалось утолщение фибрилл с уменьшением их содержания в стенках альвеол.

**Ключевые слова:** легкое, блеомицин, сурфактант-БЛ, коллагеновые фибриллы

Проблема патогенеза и лечения пневмофиброза остается актуальной в практике лечения как онкологических больных, так и хронических заболеваний легких. В экспериментальных исследованиях последних лет широко используется модель блеомицинового альвеолита для изучения возможности и степени модификации пневмосклероза [6-8].

В данной работе мы исследовали влияние ингаляций сурфактанта-БЛ (СБЛ) [4] в разные периоды развития блеомицинового альвеолита на накопление коллагеновых волокон (КВ), а также толщину и расположение фибрилл в легком крыс.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Крысам-самцам массой 180-220 г ( $n=24$ ) под эфирным наркозом однократно, интратрахеально вводили блеомицин в изотоническом растворе NaCl (10 мг/кг). Животных 1-й группы ингалировали СБЛ в дозе 15 мг/кг на 1, 3 и 5-е сутки, а 2-й группы —

на 8, 10 и 12-е сутки после введения блеомицина. Ингаляции СБЛ проводили с помощью ультразвукового ингалятора TuR USI 50 (Hz 50/60). Каждое животное ингалировали индивидуально через герметически укрепленную на голове маску в течение 6 мин. Через 3 и 10 сут после последней ингаляции крыс обеих групп выводили из эксперимента в состоянии глубокого тиопенталового наркоза (25 мг/кг). Кусочки ткани из разных участков легкого фиксировали в 3% растворе глutarальдегида на какодилатном буфере pH 7.4, заливали в аралдит и исследовали в электронном микроскопе "JEM-1200". На каждый срок исследования брали материал площадью 5500-6500 мкм<sup>2</sup> от 3 животных как в опыте, так и в контроле (без лечения).

Исследовали участки средней доли правого легкого с четкими признаками альвеолита. Определяли долю (%) ткани стенок альвеол (без профилей капилляров), занятую КВ, и содержание (%) среди них рыхло расположенных коллагеновых фибрилл (КФ). Распространенность внутриальвеолярных КФ при организации экссудата рассчитывалась как доля (%) полостей альвеол, занятых фибриллами. У животных сравниваемых групп

**Адрес для корреспонденции:** volchkov@biosurf.ru. Волчков В.А.

измеряли поперечные сечения 500-600 фибрилл при первичном увеличении 25 000 на каждом сроке исследования. Количественный анализ электрограмм проводили с помощью компьютерной программы "Image-Pro Plus 2.0" ("Media Cybernetics").

Статистическую значимость различий между средними величинами выборочных долей оценивали с помощью  $\chi^2$  критерия Фишера, а при анализе различий между средними величинами толщины КФ использовали  $t$  критерий Стьюдента [1].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

К моменту начала ингаляций СБЛ в 1-й группе крыс (1 сут после введения блеомицина) наблюдались явления очагового альвеолита с накоплением тонких, рыхло расположенных фибрилл в стенках альвеол и в зонах организации внутриальвеолярного экссудата (таблица).

Через 8 сут после введения блеомицина (3 сут после окончания терапии СБЛ) в группе нелеченых животных отмечалась значительная распространенность участков с альтерациями клеточных и фибриллярных структур. Общее количество КВ по сравнению с предыдущим сроком исследования увеличивалось только за счет нарастающей доли внутриальвеолярных КФ (таблица). В 1-й группе животных тяжесть воспалительного процесса ослабевала с появлением единичных очагов внутриальвеолярных КФ (таблица). Вместе с тем в стенках альвеол происходило значительное накопление КВ. Более 40% из них были представлены тонкими, рыхло расположенными КФ. Средняя толщина КФ в 1-й и контрольной группах составляла  $21.7 \pm 0.31$  и  $24.6 \pm 0.26$  нм соответственно ( $p < 0.001$ ) (рисунок, а). У крыс 1-й группы в стенках альвеол увеличивалась доля тонких фибрилл,

соответствующих по своему диаметру метаболически активному коллагену III типа (7-12 нм).

Ранее показано [2,3], что через 15 сут после введения блеомицина (10 сут после окончания терапии СБЛ) в легких получавших и не получавших лечение животных наблюдалось ослабление тяжести воспаления. Содержание КВ в стенках альвеол у крыс 1-й и контрольной групп статистически значимо ( $p < 0.001$ ) увеличивалось по сравнению с предыдущим сроком исследования, однако в 1-й группе это увеличение было значительно меньшим: коэффициент увеличения составлял  $1.20 \pm 0.04$  при  $2.00 \pm 0.09$  в контроле ( $p < 0.001$ ) при полном отсутствии внутриальвеолярного экссудата в нем у животных 1-й группы. В 1-й группе рыхло расположенные тонкие КФ в стенках альвеол по-прежнему составляли более значительную долю среди КВ по сравнению с контролем (таблица). Толщина фибрилл у крыс 1-й группы увеличивалась, что нивелировало различия с контролем по данному показателю (рисунок, а).

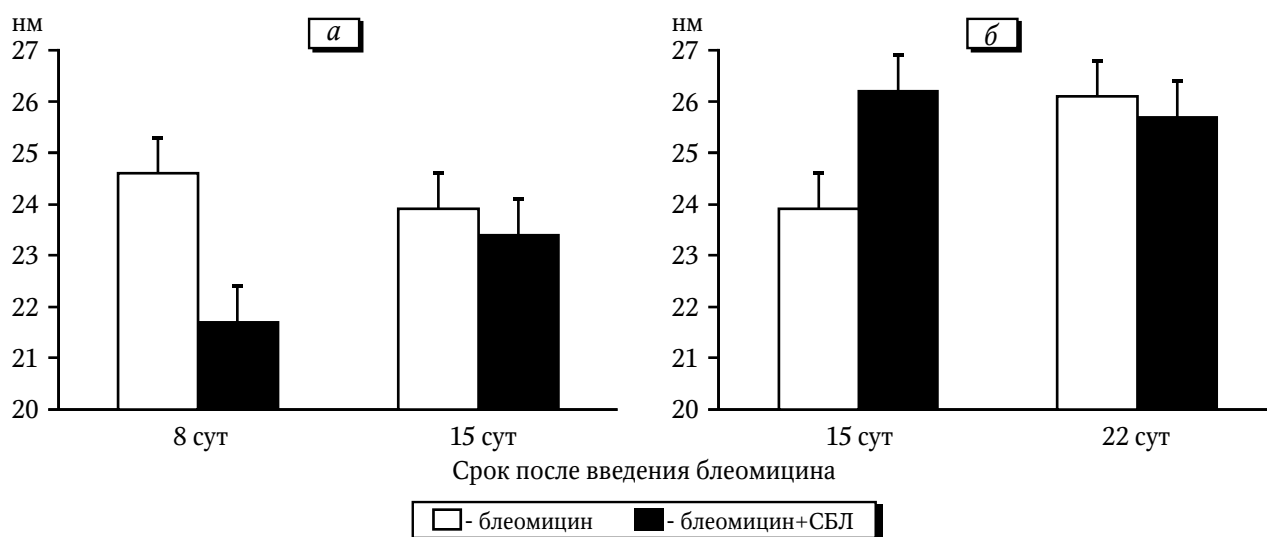
Иная картина наблюдалась при ингаляциях СБЛ в отсроченный период развития блеомицин-индуцированного альвеолита (2-я группа).

Через 15 сут после введения блеомицина (3 сут после окончания терапии СБЛ) происходило ослабление воспалительного процесса у леченых и нелеченых животных по сравнению с моментом начала лечения (8 сут после введения блеомицина). Наименьшие повреждения отмечались в ткани легких крыс 2-й группы при полном отсутствии внутриальвеолярной экссудации (таблица). Наблюдалось небольшое, но статистически значимое уменьшение площади стенок альвеол, занятых КВ, по сравнению с контролем. Доля рыхло расположенных КФ превышала контрольные значения. Во 2-й группе наблюдалось

Изменение содержания КВ в легком крыс с блеомициновым альвеолитом ( $M \pm m$ )

Группа	Срок после введения, сут		Содержание КВ в стенках альвеол, %		Содержание КФ в полостях альвеол, %
	БМ	СБЛ	всех КВ	рыхлых КФ среди всех КВ	
Контроль (без лечения)	1	—	$5.10 \pm 0.22$	$24.00 \pm 1.90$	$1.30 \pm 0.06$
	8	—	$5.30 \pm 0.19$	$12.60 \pm 1.21$	$5.00 \pm 0.26$
	15	—	$10.80 \pm 0.28$	$13.90 \pm 0.96$	$1.70 \pm 0.08$
	22	—	$10.90 \pm 0.27$	$17.30 \pm 1.02$	$4.00 \pm 0.10$
1-я группа	8	3	$8.40 \pm 0.25^{***}$	$42.40 \pm 1.55^{***}$	$1.00 \pm 0.03^{***}$
	15	10	$9.90 \pm 0.24^*$	$21.20 \pm 1.03^{***}$	—
2-я группа	15	3	$9.20 \pm 0.22^{***}$	$15.40 \pm 0.90^*$	—
	22	10	$9.50 \pm 0.23^{***}$	$14.50 \pm 0.92^*$	—

Примечание: БМ — блеомицин. \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  по сравнению с контрольными значениями в соответствующий срок.



Влияние раннего (а) и отсроченного (б) введения СБЛ на изменение средней толщины КФ при блеомициновом альвеолите.

утолщение КФ, и, как следствие, средний диаметр фибрилл превышал аналогичный показатель в контроле ( $26.20 \pm 0.19$  и  $23.80 \pm 0.26$  нм соответственно;  $p < 0.001$ ) (рисунок, б).

К 22-м суткам после введения блеомицина (10 сут после окончания терапии СБЛ) у животных контрольной группы происходило обострение воспалительного процесса с многочисленными альтерациями в ткани легких и внутриальвеолярной экссудацией. Доля ткани стенок альвеол, занятых КВ, во 2-й группе была достоверно меньше, чем в контроле ( $p < 0.001$ ). Средняя величина диаметра фибрилл у крыс 2-й группы не изменялась за время наблюдения ( $26.20 \pm 0.19$  и  $25.60 \pm 0.44$  нм;  $p > 0.05$ ), тогда как в контрольной группе толщина фибрилл увеличивалась ( $23.80 \pm 0.26$  и  $25.90 \pm 0.35$  нм;  $p < 0.001$ ), и различия по данному показателю между лечеными и нелечеными животными отсутствовали (рисунок, б).

Таким образом, ингаляции СБЛ в острой стадии развития блеомицинового альвеолита значительно ослабляли выраженность структурных альтераций, включая явления внутриальвеолярного выпота и формирования КФ в полостях. Увеличение доли тонких рыхло расположенных КФ в стенках альвеол леченых животных может свидетельствовать об усилении фибриллообразования как одного из звеньев репаративного процесса в зоне повреждения [5].

Ингаляции СБЛ в отсроченный период развития воспаления хотя и не ликвидировали, но значительно уменьшали степень обострения процесса к 22-м суткам, а также долю КВ в стенках альвеол по сравнению с контролем. Утолщение фибрилл свидетельствовало о различиях в их тонкой орга-

низации при формировании КВ в раннем и отсроченном периоде хронического альвеолита.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волчков В.А. Краткое практическое руководство по биометрии для врачей. СПб., 2004.
2. Волчков В.А., Дубровская В.Ф., Клестова О.В., Валькович А.А., Сержанина В.А., Сейлиев А.А., Розенберг О.А. Терапевтическая эффективность раннего и позднего введения сурфактанта-БЛ при блеомициновом поражении легких у крыс // Бюл. экспер. биол. 2006. Т. 141, № 6. С. 629-632.
3. Волчков В.А., Дубровская В.Ф., Сержанина В.А., Валькович А.А., Клестова О.В., Сейлиев А.А., Розенберг О.А. Эффективность коррекции блеомициновых повреждений ультраструктурных компонентов легких крыс при раннем и позднем введении сурфактанта-БЛ // Бюл. экспер. биол. 2011. Т. 152, № 11. С. 511-513.
4. Розенберг О.А. Легочный сурфактант и его применение при заболеваниях легких // Общая реаниматология. 2007. Т. 3, № 1. С. 66-77.
5. Серов В.В., Туинов В.С. Воспаление. М., 1995.
6. Aono Y., Ledford J.G., Mukherjee S., Ogawa H., Nishioka Y., Sone S., Beers M.F., Noble P.W., Wright J.R. Surfactant protein-D regulates effector cell function and fibrotic lung remodeling in response to bleomycin injury // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2012. Vol. 185, N 5. P. 525-536.
7. Goto H., Ledford J.G., Mukherjee S., Noble P.W., Williams K.L., Wright J.R. The role of surfactant protein A in bleomycin-induced acute lung injury // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2010. Vol. 181, N 12. P. 1336-1344.
8. Wu H., Li Y., Wang Y., Xu D., Li C., Liu M., Sun X., Li Z. Tanshinone IIA attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via modulating angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7) axis in rats // Int. J. Med. Sci. 2014. Vol. 11, N 6. P. 578-586.

Получено 03.02.15