

УДК 615.235:616.23 – 092.18 – 092.9

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА АМКЕСОЛ НА МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ БРОНХОАЛЬВЕОЛИТЕ

Стороженко Е.В., Наумова О.В., Звягинцева Т.В.

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, e-mail: storoz13@mail.ru

Изучено влияние нового комбинированного препарата сироп Амкесол (амброксола гидрохлорид, кетотифена фумарат, теобромин и экстракт солодки сухой) на морфологические и морфометрические изменения в легочной ткани при экспериментальном бронхоальвеолите на животных раннего детского возраста. Комплексное морфологическое и морфометрическое исследование легких показало, что при лечении лабораторных животных с экспериментальным бронхоальвеолитом новой комбинацией лекарственных препаратов по сравнению с группой животных без лечения микроскопическая картина характеризуется купированием воспалительно-пролиферативных процессов и дисциркуляторных расстройств в структурных компонентах легочной ткани, уменьшением распространенности острой эмфиземы, снижением выраженности альтеративных изменений и проявлений антигенной стимуляции с восстановлением морфологической структуры лимфоидной ткани, что позволяет считать целесообразным применение нового комбинированного препарата С-АКС при лечении бронхо-легочной патологии.

Ключевые слова: бронхолегочные заболевания, сироп Амкесол, детские лекарственные формы, бронхоальвеолит, морфология легких

EFFECT OF AMKESOL ON MORPHOLOGICAL PORPERTIS OF LUNG TISSUE IN EXPERIMENTAL BRONCHOALVEOLITIS IN RATS

Storozhenko E.V., Naumova O.V., Zvyagintseva T.V.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, e-mail: storoz13@mail.ru

The aim of this study was to determine histologically the efficacy of the new combined preparation amkesol (S-AKS) given as syrup on the inflammation process of lung tissue in rats of different age. Experimental bronchoalveolitis was performed on 1-month-old 30 WAG rats of both sexes by inhalation of irritant Sephadex A-25 Pharmacia, Sweden (5 mg/kg). Animals were randomly divided into three groups: intact, control (without treatment), and the groups that received daily S-AKS (0.9 ml/kg). Tissue samples were collected on 7th and 14th days. Histological evaluation was provided using van Gieson and hematoxylin and eosin staining. On the 7th day after administration of the irritant in control group acute bronchitis, neutrophilic alveolitis and vicarious emphysema were observed. On the 14th day lymphoma in the same group histiocytic granulomatous was developed. In group treated by amkesol on 7th day neutrophilic infiltration in bronchial walls submucous was decreased, the relative volumes of the lumen of the alveoli and interalveolar walls was normalized. Using of S-AKS for 14 days caused a significant decrease in severity of acute emphysema, in the alterations and marks of antigenic stimulations with restoration of morphological properties of lymphoid tissue.

Keywords: chronic broncho-pulmonary disease, syrup Amkesol, children medicinal forms, bronchoalveolitis, morphology of the lung tissue

По данным ВОЗ бронхо-легочные заболевания являются одной из наиболее распространенных патологий в детской практике. Повторные острые респираторные заболевания способны вызывать сенсibilизацию организма, приводя к развитию генерализованных реакций гиперчувствительности бронхов с последующим формированием рецидивирующих бронхитов, бронхиальной астмы (БА) и других бронхо-легочных заболеваний [2, 12]. Эпидемиологические исследования последних лет с использованием современных критериев диагностики в педиатрии позволяют считать, что рецидивирующие бронхиты, особенно обструктивные формы, являются манифестацией БА [10], а гиперреактивность бронхов – ведущий патофизиологический механизм ее развития. В качестве факторов риска формирова-

ния БА рассматриваются: недоношенность, перинатальные повреждения центральной нервной системы, низкая масса тела при рождении, угроза прерывания беременности, перинатальная асфиксия [8, 9].

Ранее нами было показано, что новый комбинированный препарат сироп Амкесол (С-АКС), содержащий амброксола гидрохлорид, кетотифена фумарат, теобромин и экстракт солодки сухой, обладает противовоспалительным, жаропонижающим, противоаллергическим, спазмолитическим и противокашлевым действием [5, 6, 7] у лабораторных животных месячного возраста (что по морфофункциональным особенностям соответствует 3 годам жизни человека) [4]. Учитывая, что морфологической основой бронхиальной гиперчувствительности при БА является хроническое

аллергическое воспаление дыхательных путей, наблюдающееся на всех этапах заболевания, независимо от его тяжести и течения [14, 15], представляет интерес исследование морфогенеза верхних дыхательных путей под влиянием С-АКС.

Целью работы является изучение влияния нового комбинированного препарата С-АКС на морфогенез легочной ткани при экспериментальном бронхоальвеолите на лабораторных животных месячного возраста.

Материалы и методы исследования

Работа была выполнена на 30-месячных крысах линии WAG обоих полов. Животные были разделены на 3 группы: интактные ($n = 6$), контроль – бронхоальвеолит без лечения в динамике развития воспаления на 7 ($n = 6$) и 14 ($n = 6$) сутки, и основная группа с экспериментальным бронхоальвеолитом, ежедневно получавшая С-АКС (0,9 мл/кг) на протяжении 7 ($n = 6$) и 14 ($n = 6$) дней. Воспаление вызывали ингаляционным введением Сефадекса А-25 (Pharmacia, Швеция) (5 мг/кг). Материалом для морфологического исследования послужили легкие крыс всех исследуемых групп в разные сроки эксперимента. Гистологические исследования проводились в соответствии с общепринятыми методами. Срезы тканей окрашивали гематоксилином и эозином, фукселином с докрасиванием пикрофусином по методу Ван Гизона [11, 13]. Морфометрически [1] определялись относительные объемы просветов альвеол, острой эмфиземы, межальвеолярных перегородок, лимфоидной ткани и сосудов в легких. Гистологические, гистохимические и морфометрические исследования проводились с использованием микроскопа Olympus BX-41, программ Olympus DP-Soft (Version 3:1). Полученные результаты обрабатывались статистически

с использованием t-критерия Стьюдента методом ANOVA при помощи программы Statistica 6.0 [3].

Результаты исследования и их обсуждение

Микроскопически в исследуемых препаратах легких животных интактной группы просветы бронхов хорошо выражены, содержат небольшое количество эозинофильной слизи с примесью слущенных клеток бронхиального эпителия. Слизистая оболочка складчатая, выстлана реснитчатым эпителием. В бронхах крупного и среднего калибра эпителий многорядный, в мелких бронхах двухрядный и однорядный. Ядра клеток мелкие округлые, базофильные, цитоплазма эозинофильная. В собственной пластинке слизистой оболочки при окраске по Ван Гизону определяются продольно расположенные тонкие фуксинофильные волокна, между которыми визуализируются немногочисленные лимфоциты, фибробласты, единичные макрофаги. Подлежащая мышечная оболочка слизистой оболочки бронхов представлена несколькими рядами гладкомышечных клеток с несколько вытянутыми слабо базофильными ядрами и эозинофильной цитоплазмой. В мелких бронхах соединительнотканые волокна собственной пластинки переплетаются с гладкомышечными клетками мышечной пластинки. При морфометрическом исследовании относительный объем бронхов составляет $4,96 \pm 0,83 \%$ (таблица).

Относительные объемы (в %) показателей состояния легочной ткани при экспериментальном бронхоальвеолите и с лечением С-АКС

Показатели	Интактные	Контроль (без лечения) – 7 сутки	С-АКС – 7 сутки	Контроль (без лечения) – 14 суток	С-АКС – 14 суток
Просветы альвеол	$48,63 \pm 1,91$	$34,09 \pm 1,81^*$	$43,41 \pm 1,89^\#$	$31,89 \pm 1,78^{*\wedge}$	$43,14 \pm 1,89^\#^\circ$
Из них эмфизема	$2,99 \pm 0,65$	$15,45 \pm 1,38^*$	$8,18 \pm 1,05^{*\#}$	$15,8 \pm 1,39^{*\wedge}$	$8,52 \pm 1,07^{*\#^\circ}$
Межальвеолярные перегородки	$29,56 \pm 1,74$	$39,73 \pm 1,87^*$	$32,16 \pm 1,78^\#$	$41,02 \pm 1,88^{*\wedge}$	$31,86 \pm 1,78^\#^\circ$
Лимфоидная ткань	$12,58 \pm 1,26$	$17,2 \pm 1,44^*$	$15,38 \pm 1,38$	$16,59 \pm 1,42^*$	$15,15 \pm 1,37$
Сосуды	$4,28 \pm 0,77$	$3,98 \pm 0,75$	$4,96 \pm 0,83$	$4,89 \pm 0,82$	$5,07 \pm 0,84$
Бронхи	$4,96 \pm 0,83$	$5,0 \pm 0,83$	$4,09 \pm 0,76$	$5,61 \pm 0,88$	$4,77 \pm 0,81$

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой;

^\# – $p < 0,05$ по сравнению с контролем (без лечения) – 7 суток;

^\wedge – $p < 0,05$ по сравнению с группой, получавшей С-АКС – 7 суток;

^\circ – $p < 0,05$ по сравнению с контролем (без лечения) – 14 суток.

По данным микроскопического исследования на 7 сутки у животных контрольной группы (без лечения) развивался острый бронхит и альвеолит с преимущественно нейтрофильной инфильтрацией,

формированием макрофагальных гранул, гиперплазией бронхоассоциированной и периваскулярной лимфоидной ткани, развитием очаговой острой эмфиземы (рис. 1), что подтверждается морфометрическими

данными (таблица). Относительный объем бронхов составляет $5,00 \pm 0,83\%$, в стенке бронхов и периваскулярно определяется гиперплазия лимфоидной ткани с плазмочитарной трансформацией периферических отделов, выраженной макрофагальной инфильтрацией. Относительный объем лимфоидной ткани составляет $17,20 \pm 1,44\%$, что достоверно превышает значение этого показателя по сравнению с интактной группой (таблица).

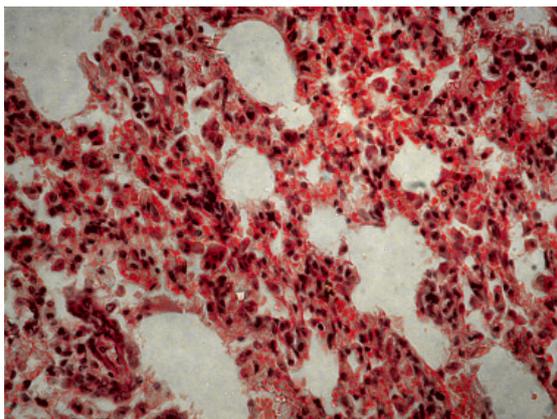


Рис. 1. Контрольная группа, 7-е сутки. Острый альвеолит. Отек и инфильтрация полиморфноядерными нейтрофилами межальвеолярных перегородок с наличием макрофагальных гранул и гигантских многоядерных клеток. В неравномерно выраженных просветах альвеол альвеолярные макрофаги. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

При морфологическом исследовании препаратов легких экспериментальной группы, получавшей С-АКС в течение 7 дней, микроскопическая картина характеризуется отсутствием нейтрофильной инфильтрации в стенке бронхов и альвеол. Морфометрически относительный объем просветов альвеол составляет $43,41 \pm 1,89\%$, достоверно ниже соответствующего показателя в группе без лечения. Удельная доля острой эмфиземы составляет $8,18 \pm 1,05\%$, что достоверно выше показателя интактной группы (таблица). Морфометрически определяется нормализация показателей относительных объемов просветов альвеол и межальвеолярных перегородок, относительного объема бронхоассоциированной и периваскулярной лимфоидной ткани (рис. 2), что свидетельствует о положительной динамике патологического процесса под действием препарата. Выявленные дисциркуляторные нарушения и изменения в структурных компонентах легких, наличие очаговой острой эмфиземы, сохранение в лимфоидной ткани признаков антигенной стимуляции свиде-

тельствует о наличии у животных остаточных явлений после перенесенного острого воспалительного процесса в легких.

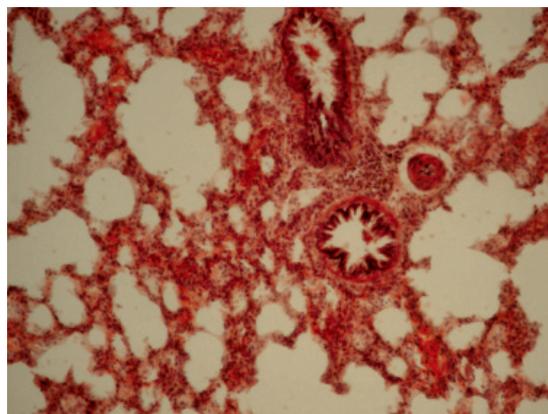


Рис. 2. Экспериментальная группа, получавшая С-АКС, 7-е сутки. Умеренно выраженная гиперплазия и макрофагальная инфильтрация бронхоассоциированной и периваскулярной лимфоидной ткани. Распространенная острая эмфизема. В просвете альвеол слущенный альвеолярный эпителий и альвеолярные макрофаги. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Перибронхиально встречаются гранулемы из 3–5 гигантских многоядерных клеток типа гигантских клеток инородных тел, содержащих, как правило, более 10 базофильных округлых ядер, располагающихся в эозинофильной цитоплазме без определенной ориентации или по периферии клетки. В лимфоидной ткани, локализованной в стенке бронхов и вокруг сосудов, отмечается разрежение плотности лимфоцитов, макрофагальная реакция и плазмочитарная трансформация в периферических отделах лимфоидных образований (рис. 3). Относительный объем лимфоидной ткани составляет $16,59 \pm 1,42\%$, что достоверно превышает значение этого показателя в группе сравнения (таблица). Выраженность и распространенность бронхита и альвеолита не нарастает, однако изменяется характер тканевой реакции – в стенках бронхов и межальвеолярных перегородках преобладает лимфогистиоцитарная инфильтрация, сформированы зрелые макрофагальные гранулемы и гигантоклеточные гранулемы инородных тел (рис. 3), что можно расценивать как свидетельство хронизации воспалительного процесса в бронхо-легочной ткани.

В препаратах легких экспериментальной группы, получавшей С-АКС в течение 14 дней, просветы бронхов всех калибров содержат немного эозинофильной слизи и единичные десквамированные бронхиальные эпителиоциты со слабо базо-

фильным ядром и набухшей цитоплазмой. В подслизистом слое крупных и средних бронхов определяется фиброзно-хрящевой или фиброзный слой из умеренно фуксинофильных коллагеновых волокон. Морфометрически относительный объем бронхов составляет $4,77 \pm 0,81\%$ (таблица). Бронхоассоциированная лимфоидная ткань обнаруживается в слизистом и подслизистом слоях в виде очаговых скоплений или диффузного расположения по периметру бронха. Отмечается разрежение клеточной плотности лимфоидной ткани, она представлена главным образом лимфоцитами, макрофагами, единичными эозинофилами и нейтрофилами. Альвеолы хорошо выражены,

местами с расширенными просветами, в которых обнаруживаются немногочисленные слушенные альвеолоциты и альвеолярные макрофаги. Нормализуется относительный объем просветов альвеол, относительный объем бронхоассоциированной и периваскулярной лимфоидной ткани имеет тенденцию к снижению по сравнению с контролем без лечения (таблица). Отмечается положительная динамика течения воспалительного процесса в легких при лечении экспериментальных животных выбранной комбинацией препаратов, что подтверждается нормализацией микроскопической картины и основных морфометрических показателей (таблица).

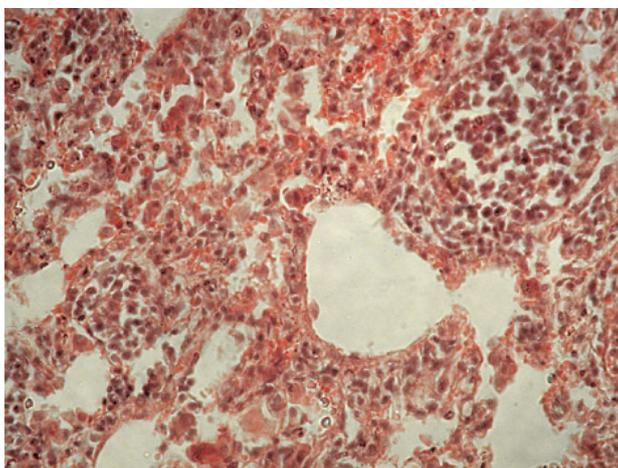


Рис. 3. Контрольная группа, 14-е сутки. Диффузная лимфогистиоцитарная инфильтрация, зрелые макрофагальные гранулемы межальвеолярных перегородок. Окраска гематоксилином и эозином, х400

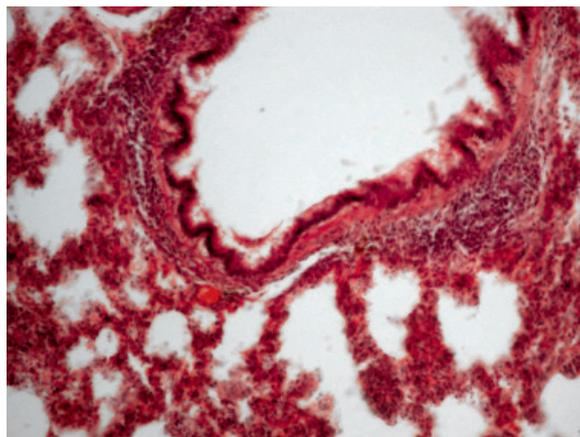


Рис. 4. Экспериментальная группа, получавшая С-АКС, 14-е сутки. Умеренно выраженная гиперплазия и макрофагальная инфильтрация бронхоассоциированной лимфоидной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, х200

Сохранение увеличенного количества альвеол в состоянии острой эмфиземы, макрофагальной инфильтрации лимфоидной

ткани являются следствием предшествующего острого воспалительного процесса в легких (рис. 4).

Выводы

Новый комбинированный препарат сироп Амкесол положительно влияет на морфогенез легочной ткани у однопольных лабораторных крыс с экспериментальным бронхоальвеолитом:

1. Применение С-АКС в дозе 0,9 мл/кг ежедневно в течение недели снижает нейтрофильную инфильтрацию в стенке бронхов, нормализует показатели относительных объемов просветов альвеол и межальвеолярных перегородок, объем бронхоассоциированной и периваскулярной лимфоидной ткани

2. Применение С-АКС в дозе 0,9 мл/кг ежедневно в течение двух недель достоверно уменьшает распространенность острой эмфиземы, снижением выраженности альтеративных изменений и проявлений антигенной стимуляции с восстановлением морфологической структуры лимфоидной в динамике развития гранулематоза

Положительная динамика морфологических и морфометрических показателей открывает перспективы для дальнейшего изучения и применения нового комбинированного препарата С-АКС при лечении бронхо-легочной патологии в педиатрической практике.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Балаболкин И.И. Бронхиальная астма у детей. – М.: Медицина, 2003. – 319 с.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика / перев. с англ. – М.: Практика, 1998, – 459 с. (С. 105–107).
4. Западнюк В.И. Гериатрическая фармакология. – Киев: Здоров'я, 1977. – С. 6–24.
5. Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Миронченко С.И., Стороженко Е.В., Ермоленко Т.И. Зависимость противовоспалительного действия комбинированного препарата для лечения бронхо-легочной патологии от возраста. – XVI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», сборник материалов конгресса (тез. докл.) 6 – 10.04 2009 г. – М., 2009. – С. 662.
6. Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Ганзий Т.В., Сырвая А.О., Миронченко С.И., Ермоленко Т.И. Экспериментальное изучение жаропонижающего эффекта амкесола // Медицина сегодня і завтра. – 2009. – № 3–4. – С. 4–10.
7. Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Стороженко Е.В., Ананько С.Я. Фармакологическое действие амкесола при воспалительной патологии с аллергическим компонентом // Инновации в диагностике и лечении ЛОР-заболеваний: сборник научных трудов украинско-российской конференции, посвященной 90-летию кафедры отоларингологии ХНМУ (Харьков, 5–6 апреля 2012 г.). – Х., 2012. – С. 42–43.
8. Коганов С.Ю., Розина Н.Н., Дрожжев М.Е., Геппе Н.А. Хроническая обструктивная патология легких как проблема пульмонологии детского возраста / Хр. обстр. болезни легких (под ред. А.Г. Чучалина). –М.: ЗАО «Изд-во БИНОМ», 1998, – С. 479–501.
9. Кухтинова Н.В. Фенотип неатопической астмы у детей / Н.В. Кухтинова, Е. Г. Кондюрина, С.М. Гавалов, М.Д. Лентце // Сборник трудов XIX Нац. конгресса по болезням органов дыхания. – М., 2009. – С. 80.
10. Ласица О.И. Современные подходы к лечению бронхиальной астмы у детей / Укр. мед. часопис. – 1998. – № 1. – С. 14–17.
11. Лилли Р. Гистологическая техника и практическая гистохимия: пер. с англ. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
12. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Атмосфера, 2008. – 108 с.
13. Пирс Э. Гистохимия. – М.: Изд-во иностр. лит., 1962. – 962 с.
14. Середа Е.В. Бронхиты у детей: современные принципы терапевтической тактики // Фарматека. – М.: Бионика, 2002. – № 11 (62). – С. 16–18.
15. Таточенко В.К. Бронхиты // Практическая пульмонология детского возраста, (под ред. В.К. Таточенко). М.: Мед., 2000. С. 101–11.

References

1. Avtandilov G.G. Medicinskaya morfometriya M.: Medicina, 1990. 384 p.
2. Balabolkin, I. I. Bronxialnaya astma u detej / I.I. Balabolkin. M.: Medicina, 2003. 319 p.
3. Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika / perev. s angl., M.: Praktika, 1998, 459 p. (pp. 105–107).
4. Zapadnyuk V.I. Geriatricheskaya farmakologiya, Kiev: Zdorov'ya, 1977, pp. 6–24.
5. Zvyaginceva T.V., Kirichek L.T., Mironchenko S.I., Storozhenko E.V., Ermolenko T.I. Zavisimost protivovospalitel'nogo dejstviya kombinirovannogo preparata dlya lecheniya bronxolegochnoj patologii ot vozrasta. xvi rossijskij nacionalnyj kongress «Chelovek i lekarstvo», sbornik materialov kongressa (tez. dokl.) 6 10.04 2009g., Moskva, 2009, pp. 662.
6. Zvyaginceva T.V., Kirichek L.T., Ganzij T.V., Syrovaya A.O., Mironchenko S.I., Ermolenko T.I. Eksperimentalnoe izuchenie zharoponizhayushhego efekta amkesola // Medicina sodogni i zavtra. 2009. no. 3–4. pp. 4–10.
7. Zvyaginceva T.V., Kirichek L.T., Storozhenko E.V., Ananko S.Ya. Farmakologicheskoe dejstvie amkesola pri vospalitelnoj patologii s allergicheskim komponentom // Innovacii v diagnostike i lechenii lor-zabolevanij: sbornik nauchnyx trudov ukrainko-rossijskoj konferencii, posvyashhennoj 90-letiyu kafedry otolaringologii xnmu (Kharkov, 5–6 aprelya 2012 g.). Kh., 2012. pp. 42–43.
8. Koganov S.Yu., Rozinova N.N., Drozhzhev M.E., Geppe N.A. Xronicheskaya obstruktivnaya patologiya legkix kak problema pulmonologii detskogo vozrasta / Xr. bolezni legkix (pod red. A.G. Chuchalina), M.: zao «izd-vo Binom», 1998, pp. 479–501.
9. Kuxtinova N.V. Fenotip neatopicheskoy astmy u detej / N.V. Kuxtinova, E. G. Kondyurina, S.M. Gavalov, M.D. Lentce // Sbornik trudov xix nac. kongressa po boleznyam organov dyxaniya. M., 2009. pp. 80.
10. Lasica O.I. Sovremennye podxody k lecheniyu bronxialnoj astmy u detej / Ukr. med. chasopis, 1998, no. 1, pp. 14–17.
11. Lilli R. Gistologicheskaya texnika i prakticheskaya gistoximiya / per. s angl. M.: Mir. 1969. 645 p.
12. Nacionalnaya programma «Bronxialnaya astma u detej. Strategiya lecheniya i profilaktika». 3-e izd., ispr. i dop. M.: Atmosfera, 2008. 108 p.
13. Pirs. E. Gistoximiya. M.: izd-vo inostr. lit., 1962. 962 p.
14. Sereda E.V. Bronxity u detej: sovremennye principy terapevticheskoy taktiki / Farmateka no. 11 (62) / 2002 M. «Bionika» pp. 16–18.
15. Tatchenko V.K. Bronxity. v kn.: Prakticheskaya pulmonologiya detskogo vozrasta, (pod red. V.K. Tatchenko), M.: Med., 2000: 101–11.

Рецензенты:

Сорокина И.В., д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков;

Жуков В.И., д.б.н., профессор кафедры биологической химии, Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков.

Работа поступила в редакцию 28.11.2014.