

УДК 616.72–002.77+616.24–003.661]+004.94:599.32

О.Ю. Ніколенко

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

МОДЕЛЬ СИНДРОМУ КОЛІНЕ–КАПЛАНА НА ЩУРАХ

На щурах створена модель синдрому Коліне–Каплана. У модельних щурів спостерігаються такі зміни в легенях як емфізема, в міжальвеолярних перегородках клітинна інфільтрація, склероз і тканинні базофіли, пил в макрофагах і в просвіті альвеол, ателектаз легень, в просвіті альвеол злушений альвеолярний епітелій та еритроцити. Виявлені зміни в бронхах: хронічний бронхіт, перибронхіальний склероз, лімфоїдні фолікули, склероз стінок бронхів, спазм бронхів, тканинні базофіли у бронхах, перибронхіальна інфільтрація.

Ключові слова: синдром Коліне–Каплана, щури, морфологія.

Хвороби легень від впливу фіброгенного пилу залишаються актуальними наряду з провідними проблемами медицини праці. Незважаючи на покращення умов праці, щорічно реєструються нові випадки таких пилових захворювань легень, як пневмоконіози (ПК) та хронічний пиловий бронхіт (ХПБ) [1, 2]. Близько 84 % профзахворювань, серед яких домінує пневмоконіоз, реєструється у працівників вугледобувної промисловості [3]. Рівень захворюваності шахтарів на пневмоконіоз залишається високим в усіх країнах світу, де є вугледобувна промисловість, і спричиняє значні економічні збитки [4, 5]. Привертає увагу зв'язок пневмоконіозу і ревматоїдного артрити (РА). Першими звернули увагу на подібне поєднання Colinet (1950) і Carlan (1953). Останнім часом більшість дослідників визнає клінічні варіанти силікозу. Ці варіанти одержали назву синдром Коліне–Каплана, силікоартрити або ревматоїдного пневмоконіозу, при якому аутоімунний процес відіграє провідну роль у прогресуванні захворювання. Якщо говорити про синдром Коліне–Каплана, то йдеться про первинність силікотичного ураження легень. Дія пилу сприяє розвитку РА, що перебігає зі вторинним ураженням легень та з утворенням ревматоїдних вузликів [6].

Матеріал і методи. В експерименті використані дві групи щурів – самців лінії

«Вістар» з масою тіла 200–250 г: 1-ша група – здорові тварини (25 щурів), 2-га група – тварини з моделюванням синдрому Коліне–Каплана за повною схемою (вводили повний ад'ювант Фрейнда 0,5 мл, що містить 0,5 мг вакцини БЦЖ, який викликає розвиток вторинної імунної відповіді. На 7-му добу тварині, яка фіксується на спині, під поверхневим ефірним наркозом у голосову щілину через вушну воронку за допомогою затупленої голки 10 см завдовжки вводили 1 мл суспензії вугільно-порідного пилу з розрахунку 50 мг пилу на одного щура. Відразу після введення щуру надавали вертикального положення. Вся операція введення в трахею пилової суспензії тривала 2–4 хв. На 15-ту і 34-ту добу в корінь хвоста щуру вводили повний ад'ювант Фрейнда 0,5 мл. На 29-ту і 40-ву добу вводили цитостатик-азатиоприн у дозі 50 мг/кг, який викликає загибель лімфоцитів під час їх максимального поділу, перш за все Т-лімфоцитів-супресорів. Доза азатиоприна, яку використовують, значно менша за ту, яка здатна викликати тотальну загибель клітин кісткового мозку, а з 16-ї по 29-ту та з 43-ї по 49-ту добу вводили з молоком метилурацил в дозі 0,2 г/кг, який стимулює і підсилює імунну відповідь. Дослідження тривало 49 діб).

Для обробки результатів дослідження проводили розрахунки за допомогою параметричних та непараметричних методів статис-

© О.Ю. Ніколенко, 2013

тики. Також використовували кореляційний та регресійний методи аналізу з оцінкою середнього значення (\bar{x}), їх помилки ($S_{\bar{x}}$), Хі-квадрат (χ^2), достовірності статистичних показників (p) на комп'ютері SAMSUNG (R 20) за допомогою ліцензійних пакетів «Statistica 5,5» (Start Soft Rus) і «Stadia 6.1» («Информатика и компьютеры», Москва) [7–13].

Результати та їх обговорення. У препаратах тварин контрольної групи під час забарвлення гематоксиліном та еозином добре видно, що у легенях збережена структура альвеол, різко виражений спазм у бронхах і зустрічаються дрібні вогнища гострої емфіземи. Є вогнищеві потовщення міжальвеолярних перегородок із вираженою лімфогістіоцитарною інфільтрацією (хронічне межуточне запалення, часто серед інфільтратів макрофаги з коричневим пігментом у просвіті одиночних альвеол, поліморфноядерні лейкоцити в стані апоптозу (рис. 1). Під час забарвлення за ван Гизоном зустрічаються колаген у стінках великих судин бронха і тонкі волокна в міжальвеолярних перегородках.

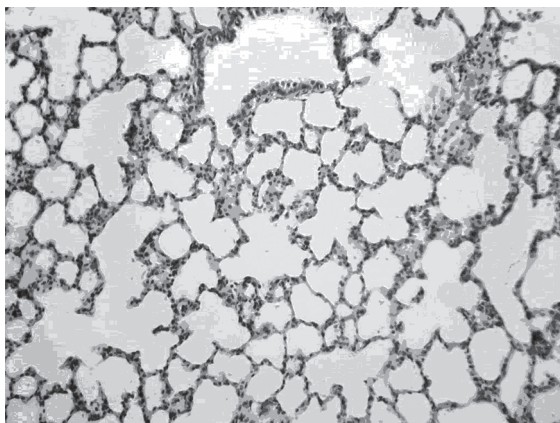


Рис. 1. Гематоксилін-еозин: гістологічна будова легень у контрольній тварини (щур). Легені з одиночними і дрібними вогнищами гострої емфіземи. Структура альвеол збережена, збільшення, $\times 200$

У модельних тварин з моделлю синдрому Коліне–Каплана відбувалися значні гістологічні зміни легень. Виражене запилення з накопиченням пилу в просвіті альвеол, міжальвеолярних перегородках (рис. 2).

У гістологічних препаратах модельних тварин відмічається хронічний бронхіт з наявністю лімфоїдного фолікула, з великою кількістю келихоподібних клітин, нерівномірні звуження і розширення в просвітах бронхів.

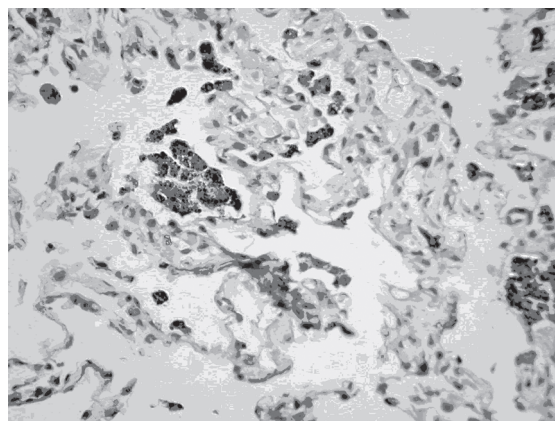


Рис. 2. Пил у макрофагах та альвеолах у щурів із моделлю синдрому Коліне–Каплана. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення, $\times 400$

Структура легень різко порушена через великі вогнища емфіземи з різким потоншенням та розривом міжальвеолярних перегородок. У інших ділянках міжальвеолярних перегородок – потовщення, часто з відкладеннями пилу і лімфогістіоцитарною інфільтрацією поряд із пилом або без нього. У просвіті альвеол зустрічаються альвеолярні макрофаги з пилом. Одиночні альвеоли повністю вкриті макрофагами з великою кількістю пилу або макрофаги заповнюють весь просвіт (рис. 3).

Під час забарвлення за ван Гизоном визначається перибронхіальний склероз, зокре-

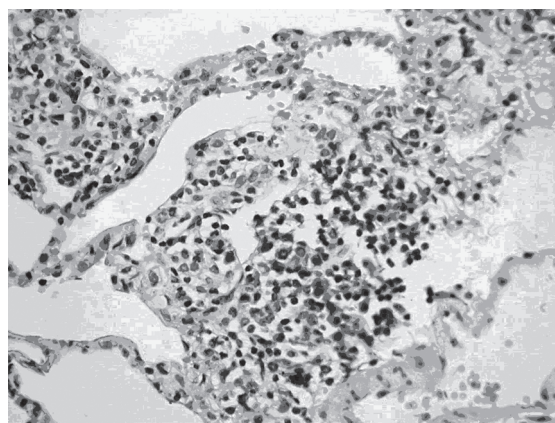


Рис. 3. Потовщення міжальвеолярних перегородок у щурів із моделлю синдрому Коліне–Каплана.

Примітка: потовщення міжальвеолярних перегородок з вираженою клітинною інфільтрацією (лімфогістіоцити та еозинофіли), коричневі включення в альвеолах. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення, $\times 400$

ма у бронхах середнього калібру, а також периваскулярний склероз, виражений склероз міжальвеолярних перегородок у місці клітин-

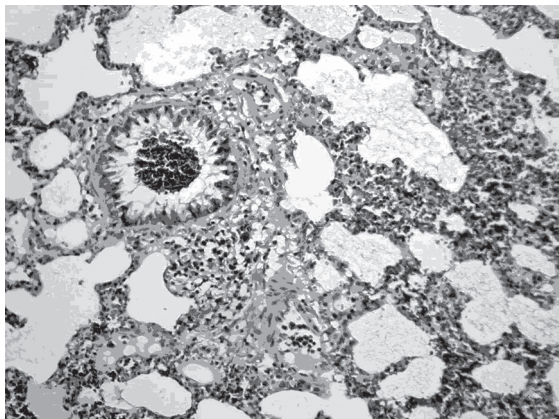


Рис. 4. Фіброз легень у щурів із моделлю синдрому Коліне–Каплана.

Примітка: перибронхіальний, периваскулярний та інтерстиціальний фіброз легень. Забарвлення за ван Гизоном, збільшення, $\times 200$ них інфільтратів (рис. 4).

Виражений склероз навколо бронхів, на

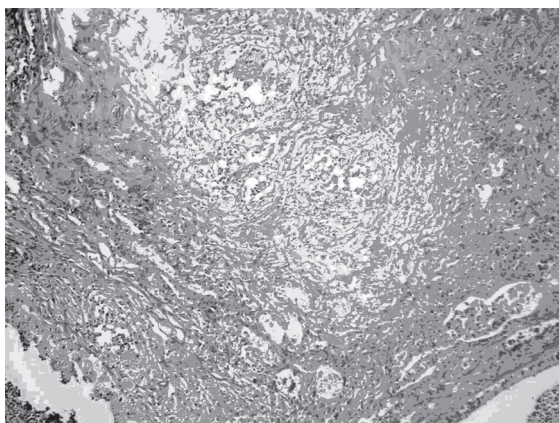


Рис. 5. Склероз легень у щурів із моделлю синдрому Коліне–Каплана.

Примітка: склероз навколо бронхів, на місці альвеол, бронхіол. Забарвлення за ван Гизоном, збільшення $\times 200$

місці альвеол, бронхіол (рис. 5).

За результатами гістологічного дослідження легень тварин з моделлю синдрому Коліне–Каплана і контрольних тварин встановлено, що емфізема зустрічалася у всіх дослідних тварин 100 % на відміну від контролю ($8,00 \pm 5,42$) % ($\chi^2=42,53$, $p<0,001$), клітинна інфільтрація в міжальвеолярних перегородках траплялась значно частіше у модельних тварин ($80,0 \pm 8,0$)% на відміну від

контролю ($4,00 \pm 3,91$) % ($\chi^2=29,64$, $p<0,001$), склероз у міжальвеолярних перегородках не зустрічався у здорових тварин 0 % на відміну від дослідних ($88,00 \pm 6,49$) % ($\chi^2=39,29$, $p<0,001$), коричневий пігмент (пил) у макрофагах зустрічався тільки у хворих тварин ($96,00 \pm 3,91$) % на відміну від контролю 0 % ($\chi^2=46,15$, $p<0,001$), коричневі включення (пил) у просвіті альвеол не знайдені у здорових тварин 0 % на відміну від модельних тварин ($96,00 \pm 3,91$) % ($\chi^2=46,15$, $p<0,001$), злушений альвеолярний епітелій у просвіті не зустрічався у контрольних тварин 0 % на відміну від дослідних ($68,00 \pm 9,32$) % ($\chi^2=25,76$, $p<0,001$), ателектаз легень траплявся частіше у модельних тварин ($80,0 \pm 8,0$) % на відміну від здорових щурів ($4,00 \pm 3,91$) % ($\chi^2=29,64$, $p<0,001$), еритроцити в просвіті зустрічались тільки у хворих тварин ($44,00 \pm 9,92$) % на відміну від контрольних 0 % ($\chi^2=14,10$, $p=0,0002$), тканинні базофіли в міжальвеолярних перегородках зустрічались у дослідних тварин значно частіше ($76,00 \pm 8,54$) %, ніж у здорових ($8,00 \pm 5,42$) % ($\chi^2=23,73$, $p<0,001$).

За результатами гістологічного дослідження бронхів тварин з моделлю синдрому Коліне–Каплана і контрольних тварин встановлено, що хронічний бронхіт зустрічався у модельних тварин значно частіше ($92,00 \pm 5,42$) %, ніж у здорових ($8,00 \pm 5,42$) % ($\chi^2=35,28$, $p<0,001$), перибронхіальний склероз траплявся у дослідних тварин частіше ($88,00 \pm 6,49$) %, ніж у контролі ($4,00 \pm 3,91$) % ($\chi^2=35,51$, $p<0,001$), лімфоїдні фолікули в бронхах у хворих тварин склали ($68,00 \pm 9,32$) % на відміну від здорових тварин ($4,00 \pm 3,91$) % ($\chi^2=22,22$, $p<0,001$), склероз стінок бронхів зустрічався тільки у модельних тварин ($60,00 \pm 9,79$) % на відміну від контролю 0 % ($\chi^2=21,43$, $p<0,001$), спазм бронхів траплявся у хворих тварин значно частіше ($80 \pm 8,0$) %, ніж у контрольних тварин ($8,00 \pm 5,42$) % ($\chi^2=26,30$, $p<0,001$), тканинні базофіли у бронхах зустрічались тільки у хворих тварин ($40,00 \pm 9,89$) % на відміну від контролю 0 % ($\chi^2=12,50$, $p=0,0004$), перибронхіальна інфільтрація зустрічалась тільки у хворих тварин ($60,00 \pm 9,79$) % на відміну від контролю 0 % ($\chi^2=21,43$, $p<0,001$).

Висновки

1. Створена модель синдрому Коліне–Каплана на щурах, у якій спостерігаються морфо-

логічні зміни, характерні для синдрому Колине–Каплана у хворих на пневмоконіоз.

2. Нова модель синдрому Колине–Каплана на щурах дозволяє дослідникам швидко

відтворити патологічний процес в організмі дослідних тварин та може використовуватись для апробації лікарських засобів для терапії аутоімунного процесу і пневмоконіозу.

Список літератури

1. *Goldyn S. R.* The burden of exposure-related diffuse lung disease / S. R. Goldyn, R. Condos, W. N. Rom // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2008. – V. 29, № 6. – P. 591–602.
2. *Beder A.* The evaluation of the pneumoconiosis cases, whose liability times being expired, applied to the Social Security High Health Committee between the years 1998–2001 / A. Beder // *Tuberk. Toraks.* – 2008. – V. 56, № 4. – P. 422–428.
3. *Басанець А. В.* Діагностика пневмоконіозу / А. В. Басанець // *Укр. пульмонол. журн.* – 2004. – № 3. – С. 69–71.
4. *Mukherjee A. K.* Assessment of respirable dust and its free silica contents in different Indian coalmines / A. K. Mukherjee, S. K. Bhattacharya, H. N. Saiyed // *Ind. Health.* – 2005. – V. 43, № 2. – P. 277–284.
5. *Sherson D.* Silicosis in the twenty first century / D. Sherson // *Occup. Environ. Med.* – 2002. – V. 59, № 11. – P. 721–722.
6. Silica-related rheumatoid arthritis without lung involvement / D. Markovits, D. Schapira, A. Wiener, A. M. Nahis // *Clin. Rheumatol.* – 2003. – V. 22, № 1. – P. 53–55.
7. *Боровиков В. П.* STATISTICA / В. П. Боровиков, И. П. Боровиков. – М. : б. и., 1998. – 583 с.
8. *Куланчев А. П.* Методы и средства анализа данных в среде Windows STADIA / А. П. Куланчев. – М. : Информатика и компьютеры, 1999. – 342 с.
9. Однофакторный дисперсионный анализ в пакете STADIA.6.0 / Ю. Е. Лях, Ю. Г. Выхова-нец, Е. И. Чуприна [и др.]; под ред. В. Н. Казакова. – Донецк : изд-во мед. ун-та, 2000. – 240 с.
10. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXEL / С. Н. Лапач, А. В. Губенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
11. *Сергиенко В. И.* Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 303 с.
12. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat / Ю. Е. Лях, В. Г. Гурьянов, В. Н. Хоменко, О. А. Панченко. – Донецк : Папакица Е. К., 2006. – 214 с.
13. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

О.Ю. Николенко

МОДЕЛЬ СИНДРОМА КОЛИНЕ–КАПЛАНА НА КРЫСАХ

На крысах создана модель синдрома Колине–Каплана. У модельных крыс наблюдаются такие изменения в легких, как эмфизема, в межальвеолярных перегородках клеточная инфильтрация, склероз и тканевые базофилы, пыль в макрофагах и просвете альвеол, ателектаз легких, в просвете альвеол сложенный альвеолярный эпителий и эритроциты. Выявлены изменения в бронхах: хронический бронхит, перибронхиальный склероз, лимфоидные фолликулы, склероз стенок бронхов, спазм бронхов, тканевые базофилы в бронхах, перибронхиальная инфильтрация

Ключевые слова: синдром Колине–Каплана, крысы, морфология.

О. Yu. Nikolenko

MODEL OF COLINET–CAPLAN SYNDROME ON RATS

On rats the model of a Colinet–Caplan syndrome is created. For modelling rats such modifications in lungs, as an emphysema, in interalveolar bafflers a cellular infiltration, a sclerosis and histic basophiles, a dust in macrophages and a clearance of alveoluses, an atelectasis of lungs, in a clearance of alveoluses a desquamated alveolar epithelium and erythrocytes are watched. Modifications in bronchi are determined: a chronic bronchitis, a peribronchial sclerosis, lymphoid follicles, a sclerosis of walls of bronchi, a spastic stricture of bronchi, histic basophiles in bronchi, a peribronchial infiltration.

Key words: a Colinet–Caplan syndrome, rats, morphology.