

УДК 616.24-003.661+612.017.1:622-051

О.Ю. Николенко, Д.О. Ластков, В.Ю. Николенко, К.Э. Могилевская
Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

ЭКСПЕРИМЕНТЕАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ВОСПРОИЗВЕДЕНИЮ АНТРАКОСИЛИКАТОЗА НА КРЫСАХ

В статье описана модель антракосиликатоза на крысах при интратрахеальном введении угольно-породной пыли. Сравнение с контрольной группой определяет у модельных животных морфологические изменения подобные при пневмокониозе. У модельных животных выявлено повышение уровней аутоантител к антигенам легких, почек, тимуса, суставов, н-ДНК и д-ДНК.

Ключевые слова: модель пневмокониоза, крысы, аутоиммунитет.

Заболееваемость пневмокониозом остается самой высокой среди всех профессиональных заболеваний во многих отраслях промышленности Украины, особенно угледобывающей. Многие годы пневмокониозы продолжают оставаться одной из приоритетных проблем медицины труда во всем мире [1]. В механизме соответствующей реакции организма на пыль, особенно кварцевую, значительная роль принадлежит иммунологическим процессам [2]. Пылевые частицы кварца активируют макрофаги, выделяющие лизосомные ферменты, интерлейкины, влияющие на лимфоциты, особенно на Т-хелперы [3]. Кроме того, цитотоксическая пыль не только активирует макрофаги, но и вызывает их гибель, при этом продукты распада стимулируют активность других макрофагов, нейтрофилов и иницируют иммунологический, в частности аутоиммунный, процесс [4, 5]. Скудность клинической симптоматики неосложненных форм пневмокониозов, низкая эффективность периодических осмотров, отсутствие патогенетических методов лечения ведут к необратимому прогрессированию кониотического процесса и раннему формированию осложнений. Начальные этапы изучения новых патогенетических методов лечения возможны только в эксперименте.

Целью исследования было получение при интратрахеальном введении пыли в эксперименте линии «Вистар» на крысах модели ант-

ракосиликатоза подобной по морфологическим признакам пневмокониозу горнорабочих угольных шахт за более короткие сроки после введения неорганической пыли производственного происхождения и выявление нарушений аутоиммунитета у модельных животных.

Материалы и методы. В эксперименте использованы две группы белых крыс – самцов линии «Вистар» массой тела 200–250 г: 1-я группа – здоровые животные (25 крыс), 2-я группа – животные с моделью пневмокониоза (25 крыс), получаемой путем интратрахеального введения суспензии угольно-породной пыли, адьюванта Фрейнда, цитостатика и иммуностимулятора.

Определяли частоту морфологических изменений в бронхах и в легких при использовании окраски гематоксилином и эозином по Ван Гизону. Для определения аутоантител применяли реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА) [5]. При статистической обработке использовали параметрические (критерий Стьюдента (S)) и непараметрические методы – медианный критерий (Mt), критерий Манна-Уитни (MW) [7, 8].

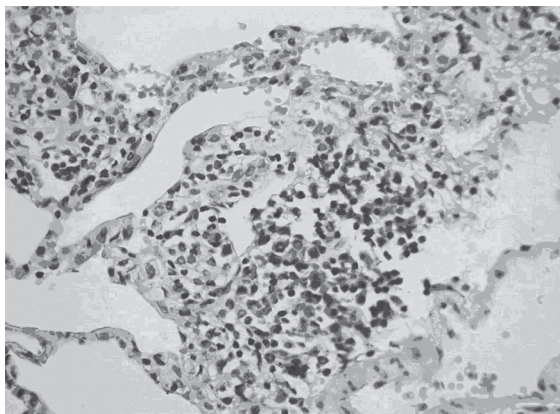
Результаты и их обсуждение. Моделирование антракосиликатоза выполняли следующим образом: животным, фиксированным на спине, под поверхностным эфирным наркозом с помощью затупленной иглы длиной 10 см интратрахеально вводили в голосовую щель через ушную воронку один мл

© О.Ю. Николенко, Д.О. Ластков, В.Ю. Николенко, К.Э. Могилевская, 2013

суспензии угольно-породной пыли из расчета 50 мг пыли на одну крысу. Сразу после введения крысе придавалось вертикальное положение. Вся операция введения в трахею пылевой взвеси продолжалась 2–4 мин. Исследования проводились 49 дней. На 15-й, 34-й, 42-й в корень хвоста крысам вводили полный адьювант Фрейнда 0,5 мл, который содержал 0,5 мг БЦЖ. На 29-й и 40-й вводили азатиоприн в дозе 50 мг/кг, а с 16-го по 29-й и с 43-го по 49-й – метилурацил с молоком в дозе 0,2 г/кг.

В препаратах при окраске гематоксилином и эозином у модельных животных хорошо видно выраженное накопление пыли в просвете альвеол и в межальвеолярных перегородках. Выявлялся хронический бронхит с наличием лимфогистиоцитарной инфильтрации лимфоидных фолликулов в стенке бронхов с большим числом бокаловидных клеток в эпителии, отмечались неравномерные расширения и сужения просвета бронхов. Структура легкого была резко нарушена из-за крупных очагов эмфиземы с резким истончением и разрывом межальвеолярных перегородок. В просвете альвеол встречались альвеолярные макрофаги с пылью. Единичные альвеолы полностью выстланы макрофагами с обилием пыли или макрофаги заполняют весь просвет (рисунок).

При окраске по Ван Гизону отмечался перибронхиальный склероз, включая бронхи среднего калибра. Периваскулярный склероз, выраженный склероз межальвеолярных пе-



Модель пневмокониоза на крысах. Утолщение межальвеолярных перегородок с выраженной клеточной инфильтрацией (лимфогистиоциты и эозинофилы), коричневые включения в альвеолах. Окраска гематоксилин и эозином, увеличение, $\times 400$

регоронок обнаружен также в месте клеточных инфильтратов.

У контрольных крыс в гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, в легком сохранялась структура альвеол, встречались мелкие очаги острой эмфиземы. При окраске по Ван Гизону пучки коллагеновых волокон встречались в стенках крупных сосудов бронхов и тонкие волокна в межальвеолярных перегородках. Сравнения частоты морфологических изменений у крыс опытной и контрольной групп в бронхах и в легких свидетельствуют о развитии у экспериментальных животных пневмокониоза.

Изучение содержания антител в сыворотке крови у крыс с помощью РПГА выявило отсутствие их в значительных титрах в контрольной группе и достоверное повышение у животных с моделью пневмокониоза.

Титры аутоантител у модельных животных были повышены к антигенам (InM \pm m): легких ($4,38 \pm 0,12$) в сравнении с контролем ($0,85 \pm 0,12$) (MW=6,18, $p < 0,001$, Mt=50,00, $p < 0,001$, S=20,21, $p < 0,001$); почек ($3,61 \pm 0,14$), в контроле ($0,80 \pm 0,14$) (MW=6,04, $p < 0,001$, Mt=39,29, $p < 0,001$, S=13,82, $p < 0,001$); тимуса ($2,03 \pm 0,15$) в сравнении с контролем ($0,91 \pm 0,12$) (MW=4,52, $p < 0,001$, Mt=10,78, $p < 0,001$, S=5,59, $p < 0,001$); суставов ($2,41 \pm 0,16$), в контроле ($0,88 \pm 0,12$) (MW=5,38, $p < 0,001$, Mt=25,96, $p < 0,001$, S=7,68, $p < 0,001$); нативной ДНК ($2,63 \pm 0,14$) в сравнении с контролем ($0,72 \pm 0,12$) (MW=5,84, $p < 0,001$, Mt=35,51, $p < 0,001$, S=5,61, $p < 0,001$); денатурированной ДНК ($3,41 \pm 0,17$) в сравнении с контролем ($0,86 \pm 0,10$) (MW=6,11, $p < 0,001$, Mt=36,21, $p < 0,001$, S=8,5, $p < 0,001$) соответственно.

Выводы

1. Создана модель антракосиликатоза на крысах введением угольно-породной пыли в трахею, которая включает морфологические изменения, характерные для пневмокониоза (эмфизема, пыль в макрофагах и склероз в межальвеолярных перегородках, альвеолярные макрофаги в просвете альвеол и воспалительные инфильтраты).

2. Установлено, что у животных с моделью антракосиликатоза происходит повышение уровней аутоантител к антигенам легких, почек, тимуса, суставов, н-ДНК и д-ДНК в сравнении со здоровыми животными.

Список литературы

1. Морфогенез экспериментального пылевого бронхита / И. В. Двораковская, Л. Н. Данилов, Б. Г. Лисочкин Б.Г. [и др.] // Пульмонология. – 2001. – № 2. – С. 45–49.
2. Артамонова В. Г. Силикатозы: особенности медицины труда, этиопатогенез, клиника, диагностика, терапия, профилактика / В. Г. Артамонова, Б. Б. Фишман. – СПб., 2003. – 327 с.
3. Mossman Brooke T. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis / T. Mossman Brooke, A. Churg // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1998. – V. 157, № 5. – P. 1666–1680.
4. Дуева Л. А. Иммунологические аспекты клиники профессиональных бронхолегочных заболеваний / Л. А. Дуева // Медицина труда и промышленная экология. – 2003. – Вып. 6. – С. 5–10.
5. Лоцилов Ю. А. Патогенез пневмококка (история вопроса и современные представления) / Ю. А. Лоцилов // Пульмонология. – 1997. – № 4. – С. 82–86.
6. Иммунологические методы / под ред. Г. Фримеля; пер. с нем. А. П. Тарасова. – М. : Медицина, 1987. – 472 с.
7. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – М. : ГЕОТАР-МЕД, 2001. – 256 с.
8. Боровиков В. П. STATISTICA / В. П. Боровиков, И. П. Боровиков– М. : Б.и., 1998. – 583 с.

**О.Ю. Ніколенко, Д.О. Ластков, В.Ю. Ніколенко, А.І. Солоділов, Х.Е. Могилевська
МОДЕЛЮВАННЯ АНТРАКОСІЛІКАТОЗА В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ЩУРАХ**

У статті описано модель антракосілікатоза на щурах при інтратрахеальному введенні вугільно-породного пилу. Порівняння з контрольною групою визначає у модельних тварин морфологічні зміни, що схожі на пневмоконіоз. У модельних тварин виявлено підвищення рівнів аутоантитіл до антигенів легень, нирок, тимуса, суглобів, н-ДНК та д-ДНК.

Ключові слова: модель антракосілікатозу, щури, аутоімунітет.

**О.Yu. Nikolenko, D.O. Lastkov, V.Yu. Nikolenko, K.E. Mogilevskaya
ANTRACOSILICOSIS MODELLING IN EXPERIMENT ON RATS**

In paper the model of a pneumoconiosis on rats is featured at intratracheal support of a coal-rock dust. Matching with telltale bunch institutes for model animals morphological variations similar at a pneumoconiosis. For model animals the raise of levels of autoantibodies to antigens of lungs, kidney, a thymus gland, joints, n-DNA and d-DNA is determined.

Key words: model of an antracosilicosis, a rat, an autoimmunity.