

сопровождается ограничением цитолиза и холестаза и повышением активности АОС организма.

2. Фармакотерапевтическая эффективность растительного сбора обусловлена высоким содержанием биологически активных веществ полифенольной природы, которые повышают резистентность

печени к повреждающему действию токсического агента.

3. Благоприятное влияние изучаемого средства на течение токсического гепатита позволяет аргументировать целесообразность его применения в комплексной терапии заболеваний гепатобилиарной системы.

### Литература

1. Азам Н., Горошко О.А., Пахомова В.П. Антиоксидантная активность лекарственных субстанций и биологически активных веществ // Традиционная медицина. – 2009. – № 1. – С. 35–38.

2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Минск: Беларусь, 2000. – 463 с.

3. Корольков М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Методы определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

4. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: Арта, 2008. – 284 с.

5. Николаев С.М. Растительные лекарственные препараты при повреждениях гепатобилиарной системы. – Новосибирск: Наука, 1992. – 155 с.

6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

7. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М.: Гэотар Медицина, 2001. – 256 с.

8. Темирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лабораторное дело. – 1981. – № 4. – С. 209–211.

9. Чжуд-ши: канон тибетской медицины / Перевод с тибетского, предисловие, примечания, указатели Д.Б. Дашиева. – М.: Восточная литература РАН, 2001. – 766 с.

**Координаты для связи с авторами:** Банзаракшеев Виталий Гамбалович (ответственный автор для переписки) – кандидат мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, тел. 8-(3012)-28-39-26, e-mail: gambalovi4@mail.ru; Ажунуова Татьяна Александровна – доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН; тел. 8-(3012)-43-43-63, e-mail: t.azhunova@mail.ru.



УДК 616.24-092.9:599.323.4-053.37:615-015:541.515

Б.Я. Рыжавский<sup>1</sup>, О.А. Лебедько<sup>1,2</sup>, О.В. Демидова<sup>1</sup>

## ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ БЛЕОМИЦИНА КРЫСАМ В КОНЦЕ МОЛОЧНОГО ПЕРИОДА НА СТРУКТУРУ ЛЕГКИХ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ В НИХ (ОТСРОЧЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ)

<sup>1</sup>Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

<sup>2</sup>Хабаровский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – НИИ Омид, 680022, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru, г. Хабаровск

### Резюме

Исследованы легкие 50-дневных крыс (n=8), которым в 27-дневном возрасте интратрахеально введен блеомицин (100 мкг в 0,1 мл физраствора). Животные содержались одновременно с контрольными (интактными, n=6) в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Забой проводили декапитацией. Правое легкое фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Срезы, окрашенные гематоксилином-эозином, подвергали гистологическому исследованию. Левое легкое использовали для изучения свободнорадикального окисления (СРО). Легкие подопытных крыс отличались утолщением межальвелярных перегородок, значительной вариабельностью

размеров альвеол, большим количеством «мелких» альвеол, в них имелись альвеолы, не имевшие выстилки из альвеолоцитов. В части случаев отмечалось значительное утолщение стенок артерий, гипертрофия в них средней оболочки. СРО характеризовалось достоверным повышением генерации свободных радикалов, продукции гидроксил-радикала, интенсификацией процессов перекисного окисления липидов, ослаблением антиоксидантной анти-радикальной защиты и снижением перекисной резистентности.

*Ключевые слова:* легкие, блеомицин, морфология, свободнорадикальное окисление.

B.Ya. Ryzhavskii<sup>1</sup>, O.A. Lebedko<sup>1,2</sup>, O.V. Demidova<sup>1</sup>

## THE EFFECT OF INTRODUCTION OF BLEOMYCINUM ON LUNGS STRUCTURE AND FREE RADICAL OXIDATION IN RATS AT THE END OF THE DAIRY PERIOD (THE DELAYED CONSEQUENCES)

<sup>1</sup>Far Eastern State Medical University;

<sup>2</sup>Mother and Child Care Institute of Siberian Branch of Russian Academy of Medical sciences, Khabarovsk

### Summary

We have been investigated the lungs of 50-day rats (n=8) that received bleomycinum intratracheally on the 27-day of age (100 mkg into 0,1 ml of physical solution). Animals were kept together with the control (intact, n=6) under the same the conditions. A forage and water were received ad libitum. We killed rats of decapitation. The right lung was placed in liquid Carnoy, filled with paraffin. The slices were stained with hematoxylin-eozinom, subjected to histologic examination. The left lung was used to study free radical oxidation (FRO). The lungs of experimental rats differed in thickening of partitions between alveoli, considerable variability of the sizes of alveoli, a large number of «small» alveoli. There were alveoli that didn't have lining of alveolocyttes. In some cases a considerable thickening of arterial walls, middle membrane hypertrophy were noted. FRO was characterized by a reliable increase of generation of free radicals, production a radical hydroxyl, an intensification of processes of lipids peroxide oxidation, weakening of antioxidant anti-radical protection and decrease in oxidation resistance.

*Key words:* lungs, bleomycin, morphology, free radical oxidation.

Поиск средств профилактики и лечения болезней органов дыхания ведется с использованием экспериментальных моделей интерстициальной пневмонии, пневмофиброза. Они могут индуцироваться введением животным блеомицина – цитостатического препарата, используемого в терапии целого ряда злокачественных опухолей. Предпосылкой использования данного препарата для моделирования экспериментальной патологии легких является наличие у него выраженного токсического действия на орган [1, 2, 7, 9, 10]. На этой модели проводится изучение эффективности лекарственных препаратов. В указанных работах последствия воздействия блеомицина на легкие было исследовано на взрослых животных (крысах).

В то же время, нами не обнаружено работ, в которых влияние блеомицина на легкие изучалось на растущих животных, чувствительность организма которых к действию токсикантов может принципиально отличаться от таковой у взрослых [4, 6]. Кроме того, в дорепродуктивном периоде онтогенеза продолжается формирование в них новых генераций альвеол, развитие легких [8], влияние которых на реакцию органа на действие токсиканта не исследовано. Поэтому представляет интерес выяснение вопроса о том, применима ли «блеомициновая» модель патологии легких при введении блеомицина в ранние периоды постнатального онтогенеза. Мы полагаем, что в процессе исследований данной направленности могут быть описаны модели ряда патологических процессов в легких детей, оценена возможность их использования при изучении терапевтического или/и профилактического эффекта лекарственных средств.

### Материал и методы

В работе применен подход, базирующийся на данных о моделировании легочной патологии у взрослых крыс при интратрахеальном введении им блеомицина

[1, 2, 7]. Опыт поставлен на животных дорепродуктивного периода онтогенеза. Крысам экспериментальной группы (n=8) в возрасте 27-ми сут. (конец молочного периода онтогенеза) был интратрахеально введен блеомицин (100 мкг в 0,1 мл физраствора). Животные содержались одновременно с контрольными (интактные крысы, n=6) в условиях одного вивария, корм и воду получали ad libitum. Забой крыс обеих групп проводили одновременно, по достижении ими возраста 51 сут. (препубертатный период), декапитацией. Таким образом, изучались отсроченные эффекты введения препарата. Правое легкое фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Срезы, окрашенные гематоксилином-эозином, подвергали гистологическому исследованию.

Левое легкое использовали для изучения свободно радикального окисления (СРО). Хемилюминесцентный (ХМЛ) анализ активности свободнорадикального окисления осуществляли на люминесцентном спектрометре LS-50B «PERKIN ELMER». Стандартизацию сигнала и математическую обработку кривых выполняли с помощью программы Finlab. ХМЛ-анализ включал определение следующих параметров [4, 5]: Ssp, h, Sind-1, S-lum, H, Sind-2. Интенсивность ХМЛ, измеренную в милливольтгах, рассчитывали на 1 г влажной ткани, взятой во время забоя животных, и выражали в относительных единицах.

### Результаты и обсуждение

Экспериментальные животные не имели достоверных отличий от интактных по массе тела (138±6 г и 143±14 г соответственно), то есть введение блеомицина в примененной дозе не отразилось на их росте. Изучение гистологических препаратов легких выявило, что подопытные крысы имели ряд отличий строения от органа у интактных животных. Прежде всего, обращало на себя внимание выраженное утолщение ме-

жальвеолярных перегородок (рис. 1). При этом они содержали значительно увеличенное количество соединительнотканых клеток (фибробластов, макрофагов), редко – лейкоциты. Иногда в межальвеолярной интерстициальной ткани располагались тяжи коллагеновых волокон, разделенных фиброцитами (рис. 2). Гипертрофия межальвеолярной соединительной ткани носила при этом диффузный характер. Она была выражена, в частности, в субплевральной области (рис. 3). Альвеолы имели средние (диаметр просвета – около 50-60 мкм) или увеличенные (диаметр просвета – 70-100 мкм и более) размеры, а в их стенке содержалось значительное количество волокон. Вышеописанные особенности легких растущих крыс, подвергнутых воздействию блеомицина в конце молочного периода, были близки к таковым, описанным при введении препарата взрослым мышам и рассматриваемым как проявления токсического альвеолита [1, 2, 7].

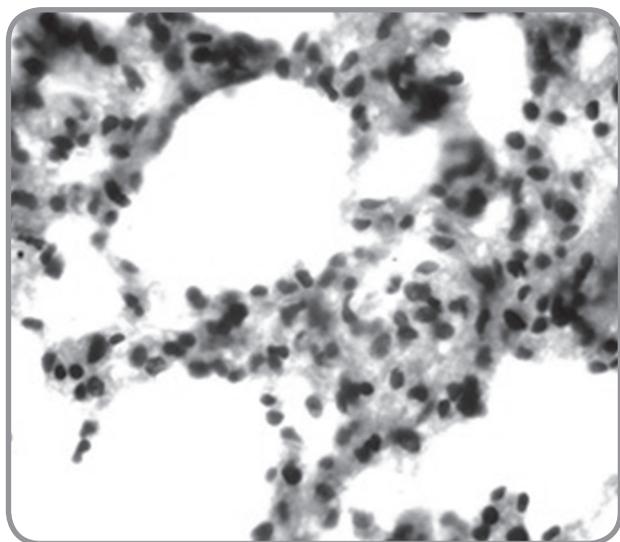


Рис. 1. Гипертрофия межальвеолярной соединительной ткани

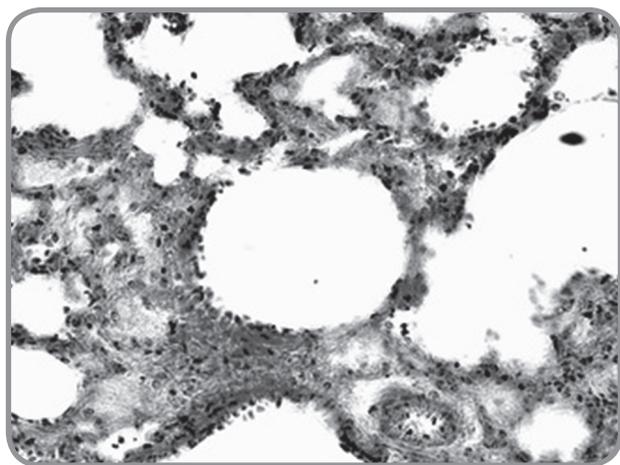


Рис. 2. Очаг фиброза интерстициальной ткани

При изучении препаратов, кроме того, обращало на себя внимание наличие в легких подопытных крыс большого числа «мелких» альвеол (диаметр просвета – 20-30 мкм). Можно предположить, что при гибели альвеолоцитов, альвеол, происходящей при действии блеомицина, интенсифицируется образование новых

генераций альвеол, обуславливающее не только рост легкого, но и его репаративную регенерацию, что и определяет обнаружение увеличенного числа альвеол, находящихся на ранних стадиях формирования. В то же время, уменьшение размеров альвеол могло обуславливаться их сдавливанием гипертрофированной соединительнотканной стромой органа. Одной из нередко выявлявшихся особенностей легких крыс, которым вводили блеомицин, являлось также утолщение, иногда очень выраженное, стенок артерий, обусловленное гипертрофией их средней оболочки (рис. 4). Данная особенность сосудистой системы легких подопытных животных свидетельствует об изменениях существенных параметров, характеризующих кровоток в органе.

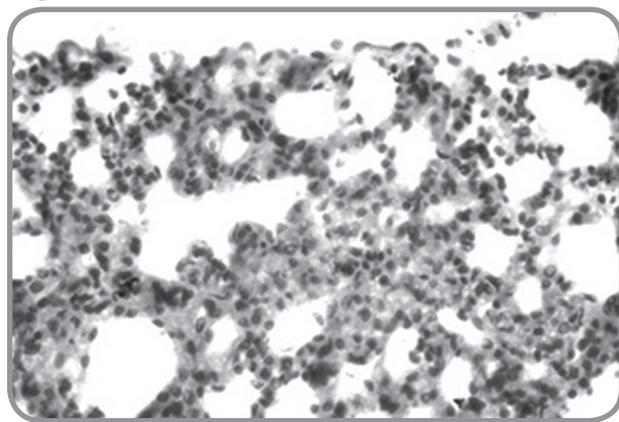


Рис. 3. Большое количество «мелких» альвеол

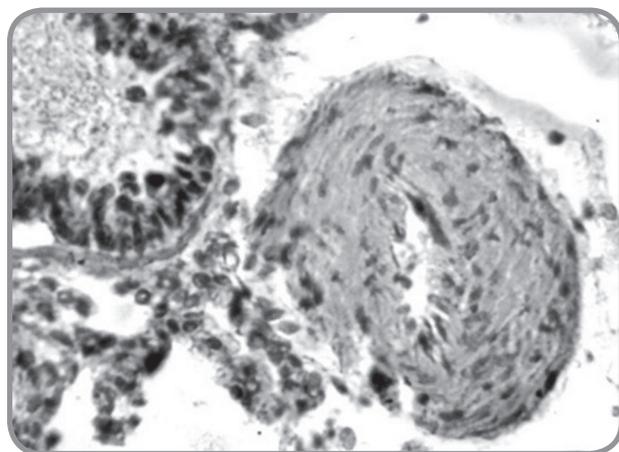


Рис. 4. Резкое утолщение стенки артерии

Результаты ХМЛ-исследования свидетельствовали, что в легких крыс, подвергнутых воздействию блеомицина, имело место достоверное повышение генерации свободных радикалов, в целом – показатель Ssp превышал аналогичный в контроле в 2,47 раза, при этом продукция гидроксил-радикала (Slum) возросла в 2,65 раза. Зарегистрирована интенсификация процессов перекисного окисления липидов: концентрация гидроперекисей липидов (h) превышала контрольные значения в 2,74 раза, скорость накопления перекисных радикалов липидной природы (Sind-1) в 3,10 раза. Нарушение биогенеза свободных радикалов сопровождалось ослаблением антиоксидантной антирадикаль-

ной защиты и снижением перекисной резистентности: величина Sind-2 возросла в 2,78 раза, амплитуда Н – в 2,87 раза, соответственно (таблица). Подобная динамика ряда показателей перекисидации липидов и ферментативного звена антиоксидантной антирадикальной защиты, свидетельствующая о развитии оксидативного стресса на органном уровне, наблюдалась при блеомицин-индуцированном фиброзе легких и у половозрелых крыс и мышей [9, 10].

**Влияние блеомицина на показатели хемилюминесценции (отн. ед.) гомогенатов легких 40-суточных белых крыс (M±m)**

|           | Ssp    | h     | Sind-1 | S-lum  | H     | Sind-2 |
|-----------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|
| Контроль  | 0,093± | 0,65± | 0,74±  | 0,100± | 1,30± | 2,41±  |
| Блеомицин | 0,230± | 1,78± | 2,30±  | 0,265± | 3,73± | 6,70±  |

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по отношению к группе «контроль».

Фактором, обуславливающим развитие патологических изменений, наблюдавшихся спустя значительный срок после введения блеомицина, считается токсическое поражение различных структур легкого, включая альвеолоциты, причем важным патохимическим компонентом данного эффекта является активация СРО в органе [1, 2, 7, 9, 10]. В связи с этим необходимо отметить, что отсроченные последствия воздействия некоторых других токсикантов могут быть сходными с вызываемыми блеомицином. Так, было показано, что

пренатальное воздействие нитрата свинца обуславливает гипертрофию перибронхиальной соединительной ткани, снижение относительного объема просветов альвеол, активацию СРО в легких крыс в возрасте 40 дней, а антенатальное введение подопытным животным эхинохрома А, обладающего антиоксидантной, антирадикальной активностью, предупреждало развитие этих изменений [3].

### Выводы

В целом представленные результаты свидетельствуют о том, что введение блеомицина крысам в конце молочного периода вызывает в их легких морфологические изменения, близкие описанным у взрослых животных. Введение препарата в примененной дозе не вызвало гибели крысят, не отразилось на их росте. В связи с этим, введение препарата животным дорепродуктивного возраста может быть использовано для моделирования широко распространенной у детей патологии легких, а также – в детской онкологии, где применяется блеомицин и препараты со сходным действием. Представляется важным, что описанные особенности легких могут быть охарактеризованы количественно и использоваться для объективной оценки эффективности действия препаратов, исследуемых для возможного воздействия на течение патологических процессов в органе.

### Литература

1. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Ермакова Н.Н. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 9. – С. 312–316.
2. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Ермакова Н.Н. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 9. – С. 375–379.
3. Козлов В.К., Козлов М.В., Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я. // Дальневосточный медицинский журнал, 2009. – № 2. – С. 61–64.
4. Колесников С.И., Семенюк А.В., Грачев С.В. и др. Импринтинг действия токсикантов в эмбриогенезе. – М. : Медицинское информационное агенство, 1999. – 263 с.
5. Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 139, № 6. – С. 621–623.
6. Рыжавский Б.Я. Состояние важнейших систем в эмбриогенезе: отдаленные последствия. – Хабаровск, 1999. – 203 с.
7. Скурихин Е.Г., Хмелевская Е.С., Першина О.В. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. № 5. – С. 590–595.
8. Целуйко С.С. Руководство по гистологии. – Т. 2. СПб. : СпецЛит, 2011. – С. 213–240.
9. El-Khouly D., El-Bakly W.M., Awad A.S. et al. // Toxicology. – 2012. – Vol. 302, № 2-3. – P. 106–113.
10. Teke T., Maden E., Kiyici A. et al. // Exp. Ther. Med. – 2012. – Vol. 4, № 1. – P. 121–124.

**Координаты для связи с авторами:** Рыжавский Борис Яковлевич – доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-32-63-93; Лебедько Ольга Антоновна – доктор мед. наук, заведующая лабораторией Института охраны материнства и детства СО РАМН; Демидова Ольга Викторовна – кандидат биол. наук, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-32-63-93.

