

Сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей при бронхиальной астме в эксперименте

Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Сазонов А.Э., Геренг Е.А., Носарев А.В.

Retractive reactions of unstriped muscles of auriferous ways at bronchial asthma in the experiment

Kapilevich L.V., Dyakova E.Yu., Sazonov A.E., Gereng E.A., Nosarev A.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю., Сазонов А.Э. и др.

Механографическим методом у морских свинок исследовались сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей при бронхиальной астме в эксперименте. Сенсibilизация животных овальбумином приводит к развитию гиперчувствительности к ингаляции данного белка с внешними признаками нарушения бронхиальной проходимости в виде кашля и одышки. Морфологически данный процесс сопровождается деструкцией эпителия бронхов, развитием иммунного воспаления в бронхиальной стенке и гипертрофией мышечного слоя. У сенсibilизированных животных отмечалось развитие гиперреактивности гладких мышц воздухоносных путей на воздействие гистамина, что проявляется в значительном снижении пороговых концентраций и увеличении максимальной амплитуды сокращения. Реакции на холинэргические и β_2 -адренэргические воздействия при этом практически не изменялись.

Ключевые слова: воздухоносные пути, гладкие мышцы, бронхиальная астма, экспериментальная модель.

Mechanographical method helped to investigate retractive reactions of unstriped muscle of auriferous ways at bronchial asthma in the experiment that guinea-pigs had. Sensitization of guinea-pigs by ovalbumin leads to the development of hypersensitivity to inhalation of this protein with external characteristics of abnormality of bronchial patency. This process is followed by decomposition of epithelium of bronchi, development of immune inflammation in bronchial wall and hypertrophy of muscle layer. In sensitized beings there was observed the development of hype reactivity of unstriped muscles of auriferous ways on histamine. It appears in histamine of liminal concentration and increasing of maximal amplitude of contraction. Reactions on choline ergine and β_2 -adrenergine effect didn't change.

Key words: auriferous ways, unstriped muscles, bronchial asthma, experimental model.

УДК 616.248:612.7

Введение

Изучение механизмов регуляции электрических и сократительных свойств гладких мышц внутренних органов, выяснение патогенеза заболеваний и разработка способов коррекции функциональных расстройств является актуальной проблемой современной физиологии и медицины. Особое значение названная проблема имеет для системы дыхания. Значительная часть заболеваний респираторной системы связана с нарушением регуляторных механизмов гладкомышечных клеток (ГМК) стенки воздухоносных путей [1, 4, 7]. Перспективным путем выяснения упомянутых механизмов является моделирование за-

болеваний органов дыхания у экспериментальных животных [3].

В литературе описано несколько моделей бронхиальной астмы (БА) на морских свинках, крысах и кроликах. В качестве сенсibilизирующего агента используются натуральная лошадиная сыворотка, раствор овальбумина и цитотоксическая сыворотка [3]. Модели используются для изучения различных аспектов патогенеза и апробации новых способов лечения. Критериями оценки чаще всего служат активность тканевых и сывороточных ферментов, гормональный и иммунный статус, морфологические изменения тканей [2, 6].

Однако в доступной литературе мы не обнаружили исследований, направленных на оценку реактивности гладких мышц воздухоносных путей при экспериментальной БА у животных, хотя именно нарушение тонуса и реактивности бронхов является конечным патогенетическим звеном данного заболевания.

В связи с изложенным целью настоящей работы явилось изучение сократительной активности гладких мышц воздухоносных путей у морских свинок с бронхиальной астмой в эксперименте.

Материал и методы

В работе использовались экспериментальные животные — половозрелые морские свинки-самцы весом 200—400 г. 12 животных экспериментальной группы сенсибилизировались трехкратно подкожными инъекциями 0,2—0,4 мл 0,25%-й взвеси овальбумина в физиологическом растворе (промежуток между инъекциями — 3—4 дня). На 21-й день животные подвергались ингаляционному воздействию аэрозоля той же взвеси. Ингаляции выполнялись с помощью ультразвукового небулайзера «Муссон-1М», размер дисперсных частиц — до 5 мкм.

После окончания ингаляции животных забивали без применения наркоза методом цервикальной дислокации, вскрывали грудную клетку, выделяли легкие. Трахея и главные бронхи отпрепаровывались от окружающей ткани в ванночке с раствором Кребса при комнатной температуре. Для изучения сократительной активности приготавливались кольцевые сегменты длиной 2—3 мм. Эндотелий удалялся механически, вращением деревянного шпателя в просвете сегмента в течение 1 мин.

Деэндотелизированные сегменты термостатировали при 37 °С в условиях постоянной перфузии аэрируемым раствором Кребса (в мМ): NaCl — 120,4; KCl — 5,9; NaH₂PO₄ — 1,2; MgCl₂ — 1,2; CaCl₂ — 2,5; NaHCO₃ — 15,5; глюкоза — 11,5; pH — 7,30—7,35. На основе раствора Кребса готовили сокращающий (KCl (40 мМ)) и тестирующие (сальбутамол (0,01 нМ — 100 мкМ), гистамин (0,01 нМ — 100 мкМ), пилокарпин (0,01 нМ — 100 мкМ)).

Механическое напряжение (МН) сегментов регистрировали в режиме, близком к изометрическому, с помощью механотронов «6МХ1Б». Эффект тестирующих препаратов на механическое напряжение гладкомышечных сегментов оценивали в процентах от амплитуды предсокращения, последняя принималась за 100%. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики.

Для проведения морфологического контроля гистологический материал забирался из средне-долевого бронха, фиксировался в 10—12%-м растворе формалина, срезы окрашивались общеморфологическими методами гематоксилином-эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, сочетанной реакцией на тучные клетки и эозинофилы. Микроскопирование проводилось при помощи микроскопа МБИ-6. Микрофотографирование препаратов осуществляли цифровым фотоаппаратом LDC Digital camera QV-100 фирмы «Casio».

Результаты исследования

Спустя несколько минут после начала ингаляции у морских свинок появилась экспираторная одышка. Затруднение дыхания нарастало в течение 3—5 мин.

В первой серии экспериментов было изучено влияние гистамина в концентрациях 0,01 нМ — 100 мкМ на механическое напряжение деэндотелизированных сегментов трахеи и главных бронхов морских свинок, предварительно предсокращенных гиперкалиевым раствором Кребса (рис. 1). У животных контрольной группы ($n = 10$) гистамин вызывал дозозависимое сокращение сегментов в концентрациях от 5 мкМ, максимальная амплитуда сокращения составляла $128,7 \pm 3,5\%$.

В то же время у животных экспериментальной группы сегменты отвечали сокращением на воздействие гистамина в концентрации свыше 1 нМ, а максимальная амплитуда сокращения достигала $218,6 \pm 7,2\%$.

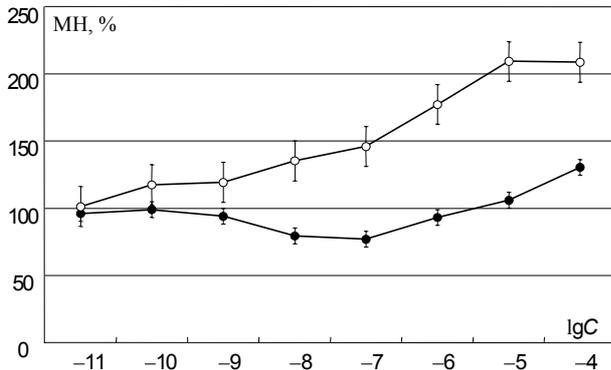
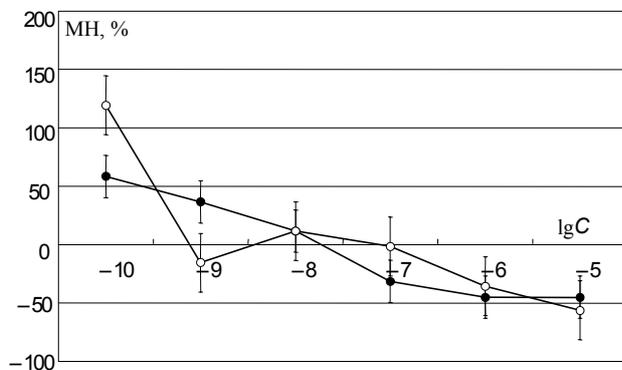


Рис. 1. Зависимость механического напряжения (МН) гладкомышечных сегментов бронхов морской свинки от концентрации гистамина. Темные точки — интактные животные, светлые точки — сенсibilизированные животные. По оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации действующего вещества, по оси ординат — МН в процентах от амплитуды сократительного ответа на 40 мМ KCL

Во второй серии экспериментов было изучено влияние агониста β_2 -адренорецепторов салбутамола в концентрациях 0,01 нМ — 100 мкМ на механическое напряжение дезодотелизированных сегментов трахеи и главных бронхов морских свинок на фоне предсокращения гиперкалиевым раствором Кребса (рис. 2). В обеих группах салбутамол вызывал дозозависимое расслабление гладкомышечных сегментов в концентрациях от 0,1 нМ до 10 мкМ ($EC_{50} = 10$ нМ, максимальное расслабление составило $51,2 \pm 3,2\%$). Достоверной разницы в реакциях на воздействие салбутамола между экспериментальной и контрольной группами выявлено не было.



Экспериментальные и клинические исследования

Рис. 2. Зависимость механического напряжения (МН) дезодотелизированных гладкомышечных сегментов трахеи и бронхов морских свинок от концентрации салбутамола. Предсокращение гиперкалиевым (40 мМ KCl) раствором Кребса. Темные точки — интактные животные, светлые точки — сенсibilизированные животные. По оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации действующего вещества, по оси ординат — МН в процентах от амплитуды предсокращения

Третья серия экспериментов была посвящена оценке холинэргических реакций ГМК воздухоносных путей при бронхиальной астме в эксперименте. Агонист М-холинорецепторов пилокарпин вызывал дозозависимое сокращение сегментов в концентрациях 10 нМ — 10 мкМ ($EC_{50} = 1$ мкМ, максимальная амплитуда сокращения — $172,4 \pm 3,2\%$). Как и в предыдущем случае, достоверной разницы в реакциях на холинэргические воздействия между экспериментальной и контрольной группами мы не обнаружили.

На гистологических препаратах (рис. 3) определялась слизистая, собственная пластинка слизистой, волокнисто-хрящевая оболочка. В слизистой оболочке эпителиальный пласт сохраняет свою целостность. Среди эпителиоцитов идентифицировались реснитчатые, бокаловидные и резервные клетки. Соотношение реснитчатых клеток к бокаловидным — 1:3. Среди эпителиальных клеток преобладали эпителиоциты с признаками дистрофии (отсутствие ресничек на апикальной стороне,

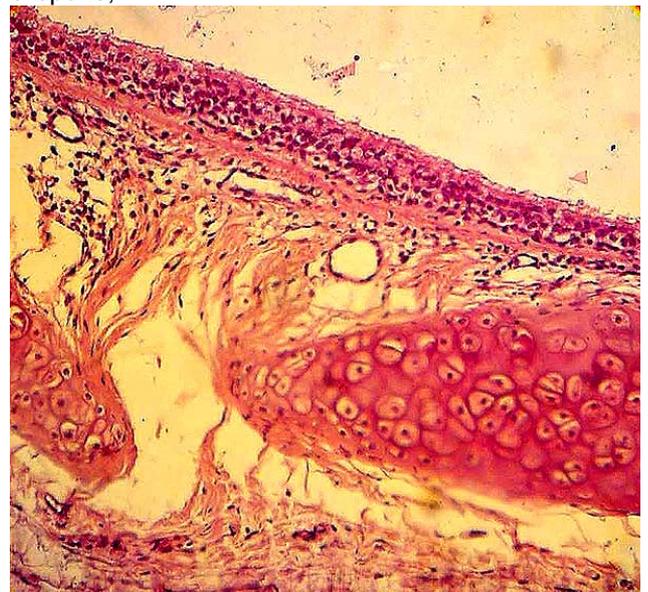


Рис. 3. Морфологические изменения стенки бронхов сенсibilизированной морской свинки

грубая зернистость в цитоплазме, глыбчатость хроматина, пикноз ядра). Базальная мембрана извита и местами утолщена. В собственной пластинке слизистой оболочки мощный отек, скопление отечной жидкости отмечается под базальной мембраной и периваскулярно. Полнокровие сосудов выявляется на всем протяжении собственной пластинки слизистой оболочки, эндотелиальные клетки в капиллярах набухшие, внутри сосудов — стаз полиморфоядерных лейкоцитов. В клеточном инфильтрате собственной пластинки слизистой оболочки определялись единичные эозинофилы, которые локализовались преимущественно под базальной мембраной. Зоны локализации клеточного инфильтрата сочетались с эксфолиацией бронхиального эпителия в просвете бронха. Мышечные волокна собственной пластинки слизистой оболочки гипертрофированы.

Полученные результаты позволяют заключить, что сенсibilизация морских свинок овалбумином приводит к развитию гиперчувствительности к ингаляции данного белка с внешними признаками нарушения бронхиальной проходимости в виде кашля и одышки. Морфологически данный процесс сопровождается деструкцией эпителия бронхов, развитием иммунного воспаления в бронхиальной стенке и гипертрофией мышечного слоя.

У сенсibilизированных животных отмечается развитие гиперреактивности гладких мышц воздухоносных путей на воздействие гистамина, что проявляется в значительном снижении пороговых концентраций и увеличении максимальной амплитуды сокращения. Реакции на холинэрги-

ческие и β_2 -адренэргические воздействия при этом практически не изменялись. Необходимо отметить, что подобные изменения реактивности воздухоносных путей — увеличение чувствительности к гистамину при сохранении неизменной чувствительности к β_2 -агонистам — в литературе расцениваются как отличительный признак бронхиальной астмы, позволяющий дифференцировать ее от других форм хронической обструктивной болезни легких [5].

Литература

1. Баскаков М.Б., Капилевич Л.В., Медведев М.А. и др. Внутриклеточные сигнальные системы в эпителии и гладких мышцах воздухоносных путей // Пульмонология. 1997. \times 2. С. 72—76.
2. Васильев Т.Н., Быкова В.П., Довжик В.П. и др. К морфологии дыхательных путей при бронхиальной астме // Архив патологии. 1974. Вып. 2. С. 22—25.
3. Капилевич Л.В., Ковалев И.В., Баскаков М.Б., Медведев М.А. Внутриклеточные сигнальные системы в эпителии- и эндотелий-зависимых процессах расслабления гладких мышц // Успехи физиологических наук. 2001. Т. 32. \times 2. С. 88—98.
4. Саркисов Д.С., Ремезов П.И. Воспроизведение болезни человека в эксперименте. М., 1960. С. 780.
5. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма и астмаподобные состояния // Русский медицинский журнал. 2002. Т. 10. \times 5(149). С. 232—235.
6. Ющик Л.В. Активность некоторых ферментов ткани легких морской свинки при модельном процессе бронхиальной астмы // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. Львов, 1986. С. 26—27.
7. Xie Z., Hakoda H., Ito I. Airway epithelial cells regulate membrane potential, neurotransmission and muscle tone of dog airway smooth muscle // J. Physiol. 1992. V. 449. P. 619—639.

Поступила в редакцию 21.12.2002 г.