

УДК: 667.092.89+612.014.46

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛИМФОТРОПНО-СОРБЦИОННОГО МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ

*Ю.И.Бородин, Т.И.Дергачева, А.В.Шурлыгина, В.В.Попова, А.П.Иванов, Е.В.Кречетова,
Л.В.Вербицкая, Е.В.Старкова, В.А.Бурмистров, Л.Н.Рачковская*

ГУ «Институт клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН», Новосибирск, Россия

EXPERIMENTAL APPLICATION OF LYMPHOTROPIC SORPTION METHOD OF TREATING ACUTE INFLAMMATION

*Yu.I.Borodin, T.I.Dergacheva, A.V.Shurlygina, V.V.Popova, A.P.Ivanov, E.V.Krechetova, L.V.Verbitskaya,
E.V.Starkova, V.A.Burmistrov, L.N.Rachkovskaya*

Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk, Russia

© Коллектив авторов, 2006 г.

Изучено влияние различных способов лечения на лимфатическую систему и периферические и центральные лимфоидные органы при экспериментальном воспалении половых органов самок крыс. Было показано, что при местной сорбционной терапии основные реакции наблюдаются на уровне регионарных лимфатических узлов. Терапевтический эффект серебросодержащего сорбента заключается в детоксикации и стимуляции лимфодренажа в очаге воспаления и регионарных к нему лимфатических узлах. При лимфотропном введении антибиотика наблюдается иммуносупрессия на местном и системном уровнях. При сочетанном лимфотропном введении антибиотика и сорбента отмечен выраженный противоинфекционный и иммуноактивирующий эффекты. Таким образом, по всем исследованным показателям наиболее эффективной следует признать комплексную лимфотропно-сорбционную терапию (сорбент + антибиотик).

This study was performed on female rodent rats whose sex organs were inflamed by experimental means. Influence of various methods of treatment on lymphatic region, peripheral and central lymphatic organs was studied. It has been shown that main response is observed on the level of regional lymph nodes when applying local sorption therapy. The therapeutic effect of silver-containing sorbent consists in detoxication and stimulation of lymphodrainage in the area of inflammation and regional lymph nodes. When antibiotics are introduced lymphotropically, immune suppressions are observed on local or systemic levels. When antibiotics and sorbent are combined and introduced lymphotropically well-marked anti-infective and immune activation effect was noted. Thus according to all the studied indications complex lympho-sorption therapy should be considered to be most efficient (sorbent + antibiotic).

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что иммунная система оказывает влияние на развитие, течение и исход воспалительного процесса [1]. Формирование иммунодефицитного состояния является одним из факторов хронизации воспалительного процесса, а интенсивная антибиотикотерапия часто приводит к иммуносупрессии [2, 3]. При острых воспалительных заболеваниях органов репродукции в патологический процесс активно вовлекаются регионарные лимфатические структуры, нарушается дренажно-детоксикационная функция регионарных лимфоузлов [4]. Это ведет к формированию местного, а затем и общего эндотоксикоза, к подавлению специфических иммунных реакций и неспецифических факторов защиты

на местном и организменном уровне. Поэтому разработка способов лечения, не оказывающих подавляющего действия на иммунную систему и улучшающих функции лимфатической системы, призвана повысить эффективность консервативной терапии воспалительного процесса.

Актуальным является изучение реакции периферических и центральных лимфоидных органов на возникновение и развитие инфекционно-воспалительного процесса в области внутренних женских половых органов и при различных способах лечения. С учетом роли лимфатической системы в преодолении воспалительного процесса большой интерес представляет разработка методов лимфотропно-сорбционной терапии.

В эксперименте был использован новый сорбент, представляющий собой серебросодержа-

ший пористый сорбционный материал на основе неорганической матрицы с заданной пористой структурой (оксид алюминия), модифицированной полимерным комплексом серебра.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте было использовано 30 крыс-самок линии Вистар с массой тела 150–200 г. У 25 животных была создана модель экспериментального воспаления внутренних половых органов [5]; 5 интактных животных составили контрольную группу.

Все животные с экспериментальным воспалением были разделены на 5 групп. В каждую группу вошли по 5 крыс.

1-я группа — «модель»: острое воспаление внутренних половых органов без лечения;

2-я группа — «плацебо»: на 2-е сутки после индукции воспалительного процесса во влагалище животных вводили марлевые тампоны, смоченные 0,9% раствором натрия хлорида в течение 3 дней;

3-я группа — «сорбент»: на 2-е сутки после индукции воспаления во влагалище вводили марлевые тампоны с серебросодержащим сорбентом 1 раз в сутки в течение 3 дней;

4-я группа — «антибиотик»: со 2-х суток заболевания животным под слизистую оболочку влагалища вводили нетромицин в дозе 1 мг на 100 г массы тела 1 раз в сутки;

5-я группа — «антибиотик + сорбент»: в вышеуказанные сроки крысам вводили под слизистую оболочку влагалища нетромицин и во влагалище марлевый тампон с серебросодержащим сорбентом 1 раз в сутки.

На 5-е сутки экспериментального воспаления у крыс брали влагалищные мазки для проведения цитологического и бактериоскопического исследова-

ния, затем животных забивали декапитацией под этиминаловым наркозом в дозе 4 мг на 100 г массы тела. Эксперимент выполнялся с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС). Извлекали вилочковую железу, селезенку, подвздошные лимфатические узлы и готовили клеточную суспензию, в которой подсчитывали количество клеток с использованием камеры Горяева. Мазки из клеточной суспензии на предметных стеклах окрашивали по Романовскому — Гимзе и определяли клеточный состав органов под микроскопом с использованием масляной иммерсии при увеличении окуляр 10, объектив 90.

Влагалищные мазки для цитологического исследования окрашивали по Романовскому — Гимзе и подсчитывали процент нейтрофилов, макрофагов, плазматических клеток, эозинофилов. Для бактериоскопии мазки окрашивали по Граму и оценивали характер и состав микрофлоры.

Для статистической обработки использовали пакет прикладных программ «Statistica». Достоверность различий между группами оценивали с применением непараметрического критерия Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При экспериментальном воспалении в 1-й группе («модель») в вилочковой железе снижалось общее количество клеток, абсолютное количество лимфоцитов, бластных клеток, процентное содержание бластных клеток и увеличивалась доля лимфоцитов (табл. 1). В селезенке увеличивался процент нейтрофилов (табл. 2). В подвздошном (регионарном) лимфоузле повышалось общее количество клеток, абсолютное количество лимфоцитов, бластных клеток и нейтрофилов (табл. 3).

Таблица 1

Клеточный состав вилочковой железы крыс при экспериментальном эндомиометрите при разных способах коррекции

Показатель	Группа					
	контроль	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Количество клеток, млн	422,7±91,5	199,1±15,7#	233,0±66,1#	162,6±36,3#	218,8±29,5	242,2±79,7
Лимфоциты, %	55,8±2,4	65,0±8,8#	79,8±1,3#	9,8±5,0#	65,5±4,2*	68,8±6,0*
Бластные клетки, %	36,2±2,9	28,0±8,2#	16,2±0,6#	24,8±3,6#	29,2±3,6*	25,8±4,7*
Макрофаги, %	1,6±0,7	0,8±0,4	0,9±0,3	0,6±0,4	1,7±0,2	1,1±0,2
Лимфоциты, млн	239,2±54,7	27,5±17,1#	186,6±54,6	109,3±19,6#	144,2±23,9#	166,2±57,7
Бластные клетки, млн	151,9±34,2	8,1±20,0#	36,3±8,7#	43,5±14,0 #	63,1±8,6#	62,1±19,3#
Макрофаги, млн	5,5±2,2	3,4±0,6	2,3±0,9	1,4±1,2	3,9±0,9	2,2±0,6

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: 1-я группа — «модель», 2-я — «плацебо», 3-я — «сорбент»; 4-я — «антибиотик»; 5-я — «антибиотик + сорбент».

— различия с показателями группы контроля ($p < 0,05$); * — различия с показателями 2-й группы («плацебо») ($p < 0,05$).

Таблица 2

Клеточный состав селезенки крыс при экспериментальном эндомиометрите при разных способах коррекции

Показатель	Группа					
	контроль	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Количество клеток, млн	1206,6±178,1	1354,5±237,4	1879,4±596,8	864,4±253,6	1323,0±180,5	820,5±69,6&
Лимфоциты, %	65,0±3,1	66,2±1,6	63,8±5,2	65,6±5,5	67,5±3,2	50,2±5,2x&
Бластные клетки, %	24,6±3,4	19,8±2,7	25,2±4,8x	22,8±5,4	19,2±3,5	36,2±6,2x&
ПЯЛ, %	8,0±1,2	12,6±1,5*	7,4±0,7x	9,6±1,1x	10,5±1,3	8,0±2,2
Макрофаги, %	3,6±0,6	2,1±0,6	4,2±1,0	3,4±0,7	2,7±0,5	3,8±0,4x
Лимфоциты, млн	773,0±99,6	904,4±162,4	1098,0±299,7	588,7±185,9	879,5±90,0	421,7±74x&
Бластные клетки, млн	303,8±69,1	253,0±42,1	574,0±250,0	198,2±85,1	270,0±77,5	289,4±41,1
ПЯЛ, млн	102,9±25,3	174,6±35,0	134,1±34,9	74,2±20,8x	138,6±28,8	63,1±14,4x&
Макрофаги, млн	45,0±12,0	31,3±13,7	75,5±29,6	32,3±14,5	36,8±8,6	31,5±4,8

Примечание: * — различия с показателями группы контроля ($p < 0,05$); x — различия с показателями 1-й группы («модель») ($p < 0,05$); & — различия с показателями 4-й группы («антибиотик») ($p < 0,05$).

Таблица 3

Клеточный состав подвздошных лимфоузлов крыс при экспериментальном эндомиометрите при разных способах коррекции

Показатель	Группа					
	контроль	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Количество клеток, млн	1,0±0,1	3,1±0,2+*	9,7±1,1+x	2,3±0,7*+	1,5±0,3x*#	5,8±1,6+&
Лимфоциты, %	40,6±4,1	48,4±5,1*	67,2±6,0+x	53,4±7,5	61,7±5,0+	46,0±1,05*&
Бластные клетки, %	47,6±4,7	38,2±6,1	23,2±5,3+	27,2±7,0	27,0±5,7+	40,4±2,4*
ПЯЛ, %	7,2±1,7	9,8±1,3	6,6±1,0	13,4±,9+*	8,0±1,5	8,0±1,6
Макрофаги, %	3,6±0,7	3,3±1,2	3,0±1,0	6,0±1,4	3,2±0,5	5,6±0,7&
Лимфоциты, млн	0,4±0,06	1,5±0,2+*	6,5±0,8+x	1,3±0,4+*	1,0±0,3+*	2,6±0,7+*&
Бластные клетки, млн	0,5±0,06	1,2±0,2+	2,3±0,6+x	0,6±0,3+x*	0,4±0,05*x#	2,2±0,6+&#
ПЯЛ, млн	0,07±0,02	0,3±0,05+	0,7±0,2+	0,3±0,04+*	0,1±0,03*x	0,5±0,2+
Макрофаги, млн	0,04±0,01	0,1±0,03	0,3±0,1+	0,15±0,06	0,05±0,02*	0,3±0,1+&

Примечание: + — различия с показателями группы контроля ($p < 0,05$); x — различия с показателями 1-й группы («модель») ($p < 0,05$); * — различия с показателями 2-й группы («плацебо») ($p < 0,05$); & — различия с показателями 4-й группы («антибиотик») ($p < 0,05$); # — различия с показателями 3-й группы («сорбент») ($p < 0,05$).

В группе «плацебо» клеточный состав вилочковой железы не отличался от группы «модель» (см. табл. 1). В селезенке увеличивалась доля бластных клеток по сравнению с группой «модель», но в обеих группах она не отличалась от показателей контроля, однако снижалось относительное содержание нейтрофилов (см. табл. 2). В лимфоузле по сравнению с 1-й группой («модель») увеличивались общее количество клеток, доля лимфоцитов и абсолютное количество лимфоцитов и бластных клеток (см. табл. 3).

Таким образом, процедура введения тампона во влагалище в группе «плацебо» вызывала изменение клеточного состава преимущественно в регионарном лимфатическом узле, возможно, за счет стресс-реакции и дополнительного раздражения воспаленной слизистой оболочки. Поэтому результаты лечения воспаления другими

способами следует трактовать с учетом данных, полученных в этой группе.

При лечении сорбентом (3-я группа) наиболее выраженные изменения наблюдали в регионарном лимфатическом узле: относительно группы «плацебо» снижалось общее количество клеток, абсолютное количество лимфоцитов, бластных клеток и нейтрофилов, увеличивалась доля нейтрофилов (см. табл. 3).

У животных, которым вводили антибиотик (4-я группа), в вилочковой железе доля лимфоцитов была ниже, чем в группе «плацебо», и не отличалась от контроля, процент бластных клеток был выше, чем в группе «плацебо», но также не превышал пределы нормы; абсолютное количество лимфоцитов и бластных клеток оставалось ниже показателей контроля (см. табл. 1). В селезенке реакция на введение антибиотика отсутствовала (см. табл. 2). В лимфатическом уз-

ле общее количество клеток, абсолютное количество лимфоцитов, бластных клеток, нейтрофилов и макрофагов снижалось до уровня интактного контроля (см. табл. 3).

У крыс, получавших комбинированное лечение «антибиотик + сорбент» (5-я группа), по сравнению с группой «плацебо», в вилочковой железе

лях зрения. В группе «антибиотик + сорбент» мазки были светлыми, в полях зрения встречались единичные лейкоциты, лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и в единичных полях — палочковая и кокковая микрофлора (табл. 4).

Острое инфекционное воспаление в области полового тракта крыс-самок приводит к выра-

Таблица 4

Результаты цитологического исследования влагалищных мазков крыс

Параметры	Группа					
	контроль	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Нейтрофилы	66,5±1,5	73,5±0,5+	63,0±5,0	55,5±13,5	52,5±2,3+x	65,5±1,5x&
Макрофаги	29,0±1,0	16,5±6,5	12,0±1,0+	10,5±0,5+&	21,5±1,5*	14,0±4,0+
Лимфоциты	4,5±0,5	10,0±7,0	25,0±4,1+	34,0±13,0+	24,5±3,5+	21,5±4,5+x
Плазматические клетки	0	0	0	0	1,5±0,5	1,0±0,0
Эозинофилы	0	0	0	0	0	0
Микрофлора	Палочковая и кокковая единич.	Кокки обильно	Кокки обильно	Кокки умеренно	Кокки умеренно	Палочковая и кокковая единич.

Примечание: + — различия с показателями группы контроля ($p < 0,05$); x — различия с показателями 1-й группы («модель») ($p < 0,05$); * — различия с показателями 2-й группы («плацебо») ($p < 0,05$); & — различия с показателями 4-й группы («антибиотик») ($p < 0,05$).

снижалась доля лимфоцитов, увеличивался процент бластных клеток, эти показатели не отличались от нормы (см. табл. 1). В селезенке доля лимфоцитов снижалась по отношению к 1-й («модель») и контрольной группе. По отношению к 1-й группе увеличивалась доля макрофагов и снижалось абсолютное количество лимфоцитов и нейтрофилов (см. табл. 2). В подвздошном лимфатическом узле по отношению к группе «плацебо» снижалось общее количество клеток и процент лимфоцитов, а доля бластных клеток повышалась, причем последние два показателя приходили к норме. Абсолютное количество макрофагов уменьшалось по сравнению с «плацебо», но оставалось высоким относительно контроля (см. табл. 3).

Цитологическое исследование влагалищного отделяемого при остром воспалении и после проведенного лечения показало, что у животных всех групп, в которых проводилось лечение, увеличивалось количество лимфоцитов. В группах «антибиотик» и «антибиотик + сорбент» доля нейтрофилов снижалась по сравнению с животными других групп и была равна таковой в контроле.

У животных 4-й и 5-й групп в мазках появлялись плазматические клетки.

При бактериоскопическом исследовании влагалищных мазков в 1-й и 2-й группах мазки были темными, «грязными», во всех полях зрения выявлялась обильная кокковая микрофлора, в группах «сорбент» и «антибиотик» — значительное уменьшение количества микрофлоры во всех по-

женным изменениям клеточного состава как центральных, так и периферических лимфоидных органов, что, по-видимому, является отражением реакции иммунной системы на антигенную стимуляцию и воспалительный процесс. По-видимому, именно эта активация функций иммунитета на системном и регионарном уровнях в период острого воспаления и приводит к последующему его преодолению [3, 6] и дальнейшему «самоизлечению» животных, характерному для данной модели [7].

Основные реакции на местную сорбционную терапию наблюдались на уровне регионарных лимфоузлов. Клеточный состав этих органов достоверно отличался от показателей в группе «плацебо» и был адекватным таковому при нормальном течении воспалительного процесса. Мы предполагаем, что сорбционно-детоксикационный и некоторый антибактериальный эффект данного препарата приводит к детоксикации и стимуляции лимфодренажа в очаге воспаления и регионарных к нему лимфатических узлах [8]. Соответственно улучшаются условия функционирования клеточных элементов, участвующих в преодолении воспалительного процесса [7, 9]. Противовоспалительное и противoinфекционное действие сорбента подтверждается анализом влагалищных мазков, в которых значительно снижается количество микрофлоры по сравнению с показателями в группах «модель» и «плацебо».

При лимфотропном введении антибиотика клинически наблюдался хороший терапевтический

кий эффект — снижение количества нейтрофилов и содержания микрофлоры во влагалищных мазках. Однако в лимфоидных органах — вилочковой железе и лимфатических узлах — остается низким или уменьшается количество бластных клеток, лимфоцитов, макрофагов и нейтрофилов. Можно предполагать, что в этом случае мы наблюдаем как противоинфекционный, так и иммуносупрессивный эффект данного препарата [10]. Именно такая реакция лимфоидных органов на антибиотикотерапию сопряжена с риском хронизации инфекционно-воспалительного процесса.

При сочетанном способе лечения (антибиотик + сорбент) клинически отмечался наиболее благоприятный эффект: выявлено почти полное исчезновение бактериальных тел в содержимом влагалища и появление плазматических клеток во влагалищных мазках, что свидетельствует о выраженном противоинфекционном действии данного способа терапии и активации местных иммунных реакций. Наблюдалась нормализация практически всех параметров клеточного состава лимфоидных органов, за исключением повышенного количества макрофагов в селезенке и лимфоузлах. Это может свидетельствовать об ускоренном наступлении макрофагальной фазы

воспалительного процесса, которая предшествует его завершению [11].

Таким образом, по всем исследованным показателям наиболее эффективной следует признать комплексную лимфотропно-сорбционную терапию. Преимущества ее состоят в том, что за счет антибиотика происходит эффективная элиминация микробного антигена из очага воспаления, а за счет серебросодержащего сорбента обеспечиваются дополнительное антимикробное действие, снижение иммуносупрессивного влияния антибиотика, а также коррекция лимфодренажа и детоксикация в очаге воспаления.

ВЫВОДЫ

1. Лимфотропно-сорбционный метод лечения острого воспаления оказывает антимикробное действие, уменьшает иммуносупрессивное влияние антибиотика и корригирует лимфодренажные и детоксикационные функции лимфатической системы в очаге воспаления.

2. Лечение острого воспаления с использованием сочетанного применения сорбента и антибиотика является наиболее эффективным из изученных методов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семенова И.Б., Прозоровская Н.И. // Журн. микробиол.— 1993.—№ 2.— С. 99—101.
2. Бодяжина В.И., Сметник В.П., Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология.— М.: Медич, 1995.— 260 с.
3. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение // Иммунология.— 2003.—№ 4.— С. 196—212.
4. Бородин Ю.И. О функциональном взаимодействии сорбирующих веществ с лимфатическими структурами // Проблемы сорбционной детоксикации внутренней среды организма: Мат. международного симпозиума.— Новосибирск, 1995.— С. 3—7.
5. Старкова Е.В., Дергачева Т.И., Астахов В.В. Способ моделирования воспалительных заболеваний половых органов у экспериментальных животных.— Патент РФ № 2142163.— 1999.
6. Шварцман Я.С., Хазенсон Л.Б. Местный иммунитет.— Л.: Медицина, 1978.— 224 с.
7. Бородин Ю.И., Дергачева Т.И., Старкова Е.В. и др. Формирование местных специфических факторов защиты в патогенезе воспаления // Второй Российский конгресс по патофизиологии.— М., 2000.— С. 277.
8. Рачковская Л.Н. Углеродминеральные сорбенты для медицины.— Новосибирск, 1996.— 234 с.
9. Буянов В.М., Данилов К.Ю., Радзиховский А.П. Лекарственное насыщение лимфатической системы.— Киев: Наукова думка, 1991.— 136 с.
10. Феклисова Л.В., Григорьев А.В., Новокшонова В.А. и др. Использование комплексного биологического бактериального препарата с сорбентом для лечения детей, больных кишечными инфекциями // Проблемы сорбционной детоксикации внутренней среды организма: Мат. международного симпозиума.— Новосибирск, 1995.— С. 266—269.
11. Маянский Д.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза.— Казань: Магариф, 1993.—192 с.

Поступила в редакцию 25.04.2005 г.
Рецензент А.М.Зайчик.