

# ПАТОМОРФОЗ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ, ЗАРАЖЕННЫХ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, ПОД ВЛИЯНИЕМ ИММУНОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Л.М.Сомова, Н.М.Кондрашова, Н.Г.Плехова, Е.И.Дробот, И.Н.Ляпун

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Владивосток

Изучены патоморфологические изменения в органах животных после интраназального заражения *Streptococcus pneumoniae* под влиянием иммунотропных препаратов на фоне лечения антибиотиком. Установлены особенности патоморфоза в легких, селезенке и тимусе при применении ликопада, тинростима и ронколейкина. Показана положительная динамика патологического процесса у опытных животных по сравнению с интактными и нелеченными иммунотропными препаратами животными контрольных групп.

**Ключевые слова:** внебольничная пневмония, *Streptococcus pneumoniae*, патоморфоз, иммунотропные препараты

Внебольничная пневмония (ВБП), вызываемая *Streptococcus pneumoniae*, занимает лидирующее положение среди болезней органов дыхания в связи с высоким уровнем заболеваемости и смертности [6,7]. Особое значение имеет тяжелая внебольничная пневмония (ТВП), поскольку именно она обуславливает летальные исходы болезни [4,5]. С начала 1990-х гг. внимание специалистов привлекает роль сепсиса в патогенезе ТВП [12]. В настоящее время известно, что в основе сепсиса лежит формирование реакции генерализованного воспаления, спровоцированной инфекционным агентом, и определена причинно-следственная связь сепсиса с развитием иммунодефицитного состояния [2,8,9,11]. Тем не менее исследования, обосновывающие целесообразность включения иммунотропных средств в комплекс базовой терапии пациентов с ВБП, малочисленны, и в недавно опубликованном пособии для врачей [7] вопросы, касающиеся иммунокоррекции при данной патологии, не затрагиваются.

Цель работы — изучить морфогенез экспериментальной пневмонии, вызванной *Streptococcus pneumoniae*, при воздействии иммунотропных препаратов для обоснования эффективности их применения при внебольничной пневмонии.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на нелинейных белых мышах ( $n=108$ ) массой 20 г, которых заражали интраназально штаммом *St. pneumoniae* в 50% ЛД, состоявшей 500 тыс. микробных клеток. В работе был использован штамм ATCC 49619 *St. pneumoniae*, полученный из музея бактериальных культур ЗАО НИИ «Центр фармакологической терапии». Животные были разделены на 6 групп: 1-я — незараженные мыши (контроль 1); 2-я — животные, зараженные *St. pneumoniae* (контроль 2); 3-я — зараженные животные, получавшие антибиотик; 4-я — зараженные животные, получавшие антибиотик и ликопад; 5-я — зараженные животные, получавшие антибиотик и тинростим; 6-я — зараженные животные, получавшие антибиотик и ронколейкин (таблица).

Через 1, 3, 5, 7, 14 и 21 сут от начала эксперимента брали кусочки легкого, селезенки и тимуса, фиксировали их в 10% растворе формалина, забуференного по Лилли, затем обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 3-5 мкм депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином.

В 3-6-й группах животных с 3-х суток после заражения проводилось лечение моксифлоксацином (АВЕЛОКС, «Bayer HealthCare») в дозе 1.04 мг/сут

в течение 7 сут. Применение иммуностропных препаратов проводили с 4-х суток после заражения (через 1 сут после начала применения антибиотика). Препараты брали из расчета их терапевтической дозы, которая составила для "Ликопида" (ЗАО "Петтек") 0.026 мг/сут, "Тинростима-С" (ФГУП "ТИНРО-Центр") 0.39 мг/сут, "Ронколейкина" ветеринарно-го ("БИОТЕХ") 1300 ЕД/сут ингаляционно.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При морфологическом исследовании легких у животных 2-й группы через 1 сут выявлено резкое полнокровие сосудов с повреждением эндотелия в виде отека и локальной деструкции, в просвете альвеол серозный экссудат с примесью эритроцитов. В бронхах имелись участки повреждения эпителиального пласта. Через 3 сут у погибших животных сосудистая реакция была еще более выражена при обширном повреждении эндотелия, что характеризовало типичную картину пневмококковой пневмонии в стадиях прилива и/или красного опеченения (рис. 1, а). Большинство альвеол были сплошь заполнены эритроцитами.

У животных 3-й группы, леченных антибиотиком, на 5-е сутки инфекции (3-и сутки лечения)

Выживаемость в группах мышей, зараженных *Streptococcus pneumoniae*

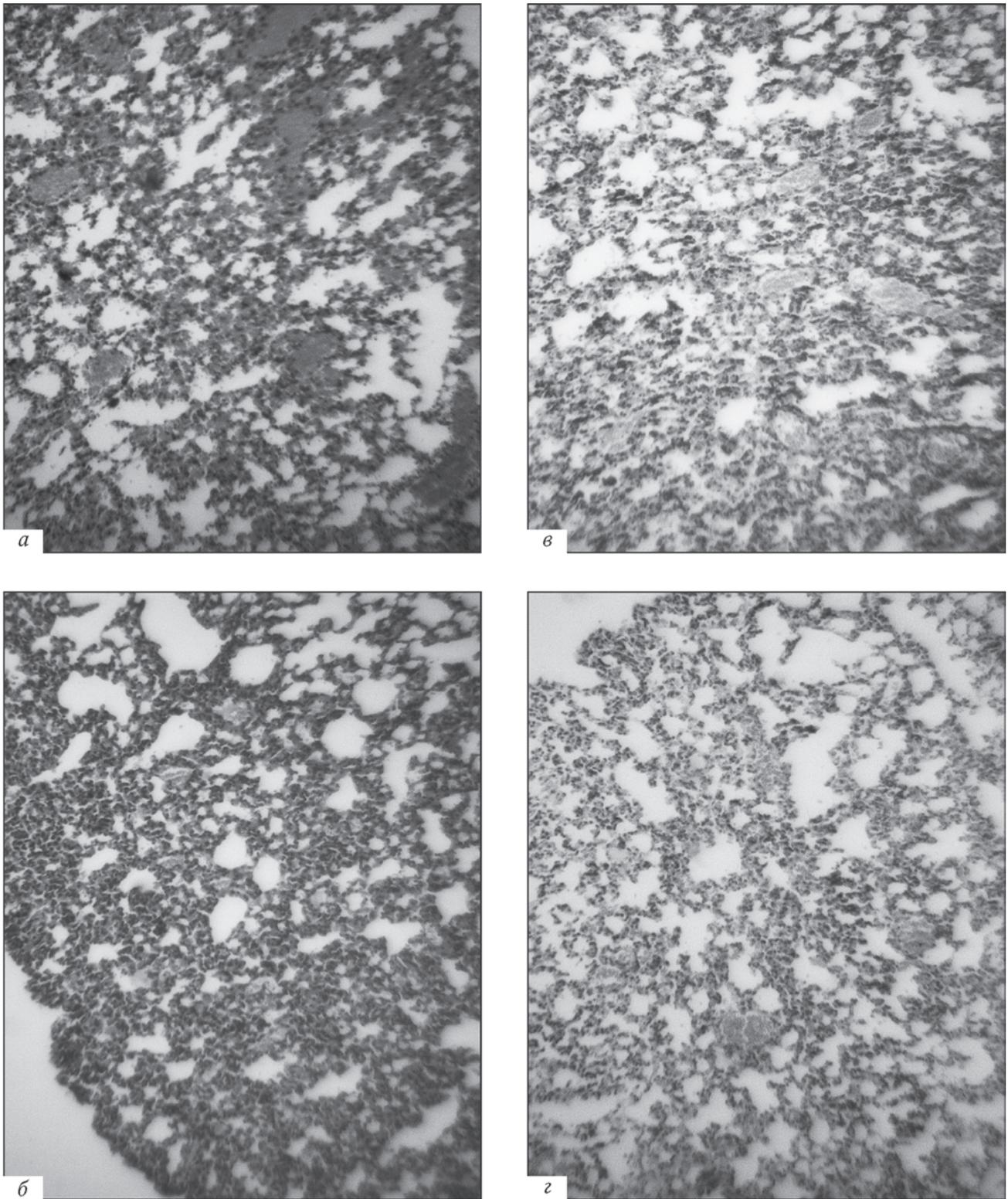
Группа	Срок после заражения, сут	Количество умерших животных	Количество животных, взятых для исследования
2-я	1	21	3
	3	35	3
3-я	5	0	2
	7	0	3
	14	0	3
	21	0	3
4-я	5	0	2
	7	0	3
	14	0	3
	21	0	3
5-я	5	0	2
	7	0	3
	14	0	3
	21	0	3
6-я	5	0	2
	7	0	3
	14	0	3
	21	0	2
Итого		56 из 105	49

явления геморрагического пропитывания альвеолярной ткани были умеренно выражены, просвет части сосудов заполнен эритроцитами с примесью серозного содержимого, имелось очаговое повреждение эндотелия. В просвете альвеол, в основном прилежащих к сосудам, наблюдались полиморфные клетки, местами формировались периваскулярные инфильтраты. В бронхах выявлено разрыхление и очаговое повреждение эпителия. На 7-е сутки после заражения (5-е сутки лечения) геморрагические явления уменьшились, на больших участках легочной ткани просветы альвеол были заполнены полиморфными клетками с незначительной примесью эритроцитов, что характерно для пневмококковой пневмонии в стадии серого опеченения (рис. 1, б). Эти участки легочной ткани чередовались с участками викарной эмфиземы. После завершения антибиотикотерапии к 14-м суткам инфекции плотность клеточной инфильтрации альвеолярной ткани уменьшилась (рис. 1, в), но до 21-х суток сохранялось полнокровие сосудов, стаз, преимущественно в венулах.

Патоморфологическую картину органов животных, получавших иммуностропные препараты на фоне антибиотикотерапии, сравнивали с таковой у животных, получавших только антибиотикотерапию (3-я группа).

Так, в легких животных 4-й группы через 1 сутки после включения ликопида в курс лечения (5-е сутки инфекции) клеточная инфильтрация альвеол была слабо выражена, периваскулярные инфильтраты не обнаружены. На 7-е сутки инфекции (4-е сутки применения ликопида) в меньшей степени были выражены явления серого опеченения легких, клеточная инфильтрация альвеол была менее плотной и отмечалась незначительная викарная эмфизема. На 14-е сутки инфекции (11-е сутки применения ликопида) при наличии резкого полнокровия сосудов и мукоидного набухания эндотелия, в основном венул, уменьшилась его порозность и эритродиапедез, а клеточная инфильтрация альвеолярной ткани имела очаговый характер (рис. 1, г). На 21-е сутки (18-е сутки применения ликопида) сосудистая реакция значительно уменьшилась, обнаруживались единичные плотные периваскулярные инфильтраты из мононуклеарных клеток.

У животных 5-й группы, получавших тинростим, на 5-е сутки инфекции (2-е сутки применения препарата) выявлены резкое полнокровие сосудов, преимущественно венул, геморрагическое пропитывание легочной ткани, более резко выраженные, чем у животных 3-й группы. На фоне геморрагического отека наблюдалась очаговая и диффузная полиморфноклеточная инфильтрация легочной ткани (рис. 2, а). Это указывало на ускорение перехода



**Рис. 1.** Патоморфоз пневмонии, вызванной *St. pneumoniae*, у животных 2-4-й групп. Окрашивание гематоксилином и эозином.

*а* – резкое полнокровие и геморрагическое пропитывание легкого (стадия красного опеченения) при нелеченой пневмонии (2-я группа; 3-и сутки),  $\times 100$ ; *б* – картина серого опеченения легкого при пневмонии, леченой антибиотиком (3-я группа; 7-е сутки),  $\times 100$ ; *в* – уменьшение воспалительной инфильтрации легкого у животного 3-й группы (14-е сутки),  $\times 100$ ; *г* – регресс патологических изменений в легком при применении ликопада (4-я группа; 14-е сутки),  $\times 100$ .

стадии красного опеченения в стадию белого опеченения за счет усиления реакции фагоцитирующих клеток. На 7-е сутки инфекции (4-е сутки применения тинростима) уменьшилось полнокровие, в воспалительных инфильтратах преобладали мононуклеары. Плотность экссудата была менее выраженной, чем в 3-й группе, и воспалительные изменения имели крупноочаговый характер. На 14-е сутки (11-е сутки применения тинростима) наблюдался отчетливый регресс патологического процесса, отмечалась резорбция очагов воспаления с восстановлением структуры альвеолярной ткани. Обращало на себя внимание формирование многоядерных периваскулярных инфильтратов из мононуклеарных клеток в виде “муфт”, а также гиперплазия бронхассоциированной лимфоидной ткани с образованием лимфоидных узелков в стенке бронхов крупного и среднего калибра (рис. 2, б, в). Это указывало на развитие тканевого иммунитета в ответ на пневмококковую инфекцию в условиях стимуляции тинростимом. На 21-е сутки инфекции (18-е сутки применения тинростима) выявлены гиперемия сосудов слабой и умеренной степени выраженности, остаточные явления очагового воспаления, немногочисленные “муфты” в виде фолликулоподобных лимфоидных образований.

У животных 6-й группы на 5-е сутки инфекции (2-е сутки после включения ронколейкина в курс лечения) обнаружены умеренное полнокровие сосудов, диффузная полиморфноклеточная инфильтрация альвеолярной ткани, незначительная гиперплазия бронхассоциированной лимфоидной ткани (рис. 2, г). На 7-е сутки (4-е сутки применения ронколейкина) оставались мукоидное набухание и локальное повреждение стенки полнокровных сосудов, очаговая лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация легочной ткани. На 14-е сутки (11-е сутки применения ронколейкина) обнаружена картина, аналогичная предыдущему сроку, отличавшаяся положительной динамикой по сравнению с 3-й группой. На 21-е сутки инфекции (18-е сутки применения ронколейкина) выявлены ограниченные участки геморрагического пропитывания легкого, умеренно выраженные явления очагового воспаления (рис. 2, д).

Селезенка у незараженных животных (1-я группа) имела нормальное строение с незначительными признаками антигенного раздражения в виде гигантоклеточной реакции в красной пульпе, что свойственно для неинбредных мышей.

У животных 2-й группы, зараженных пневмококком, в 1-е сутки инфекции в селезенке обнаружено увеличение количества крупных многоядерных клеток со светлой цитоплазмой в красной пульпе (стимулированные макрофаги; рис. 3, а). На 3-и

сутки у погибших животных наблюдалось резкое антигенное раздражение с наличием признаков истощения лимфоидной ткани разной степени выраженности (рис. 3, б). У части животных на фоне эритродиапедеза в красной пульпе в лимфоидных фолликулах белой пульпы появлялись светлые центры.

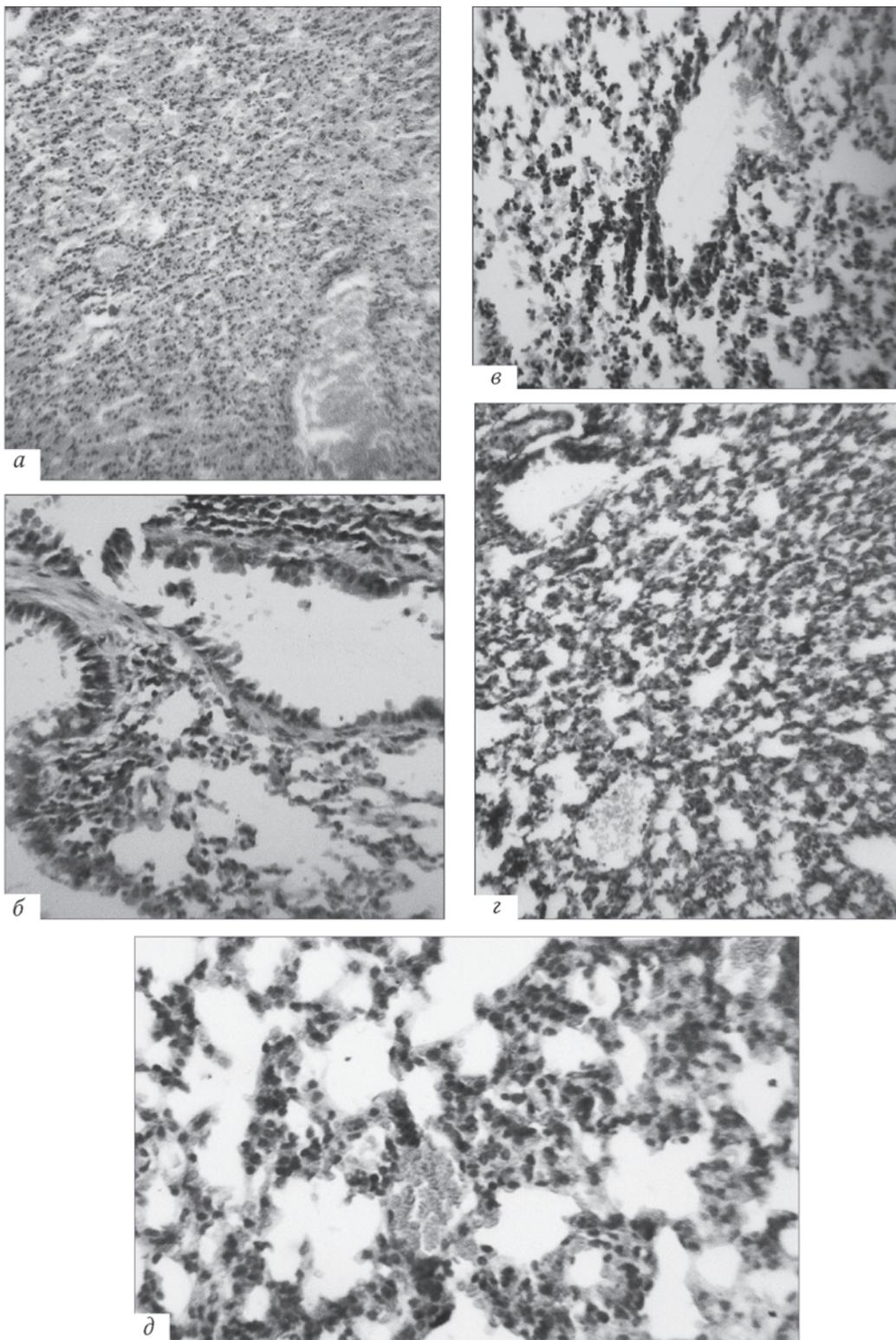
У животных 3-й группы на 5-е сутки инфекции (3-и сутки лечения антибиотиком) лимфоидное опустошение пульпы селезенки обнаружено не было, в лимфоидных фолликулах нерезко визуализировались светлые центры.

У животных 4-й группы, получавших ликолипид на фоне антибиотикотерапии, на 5-е сутки инфекции (2-е сутки применения препарата) обнаружены изменения, аналогичные таковым у интактных животных 1-й группы при слабой выраженности светлых центров в фолликулах белой пульпы. На 7-е сутки инфекции (4-е сутки применения ликолипида) картина соответствовала предыдущему сроку. На 14-21-е сутки (11-18-е сутки применения ликолипида) наблюдаемая картина была аналогичной в 1-й группе.

У животных 5-й группы, получавших тинростим, на 5-7-е сутки инфекции (2-4-е сутки применения препарата) обнаружены умеренные явления апоптоза клеток в центре лимфоидных фолликулов (картина “звездного неба”), в красной пульпе — ярко выраженная гигантоклеточная реакция. На 14-21-е сутки инфекции (11-18-е сутки применения тинростима) обнаружены эритродиапедез и макрофагально-лимфоидная гиперплазия красной пульпы, фолликулярная реакция белой пульпы (рис. 3, в).

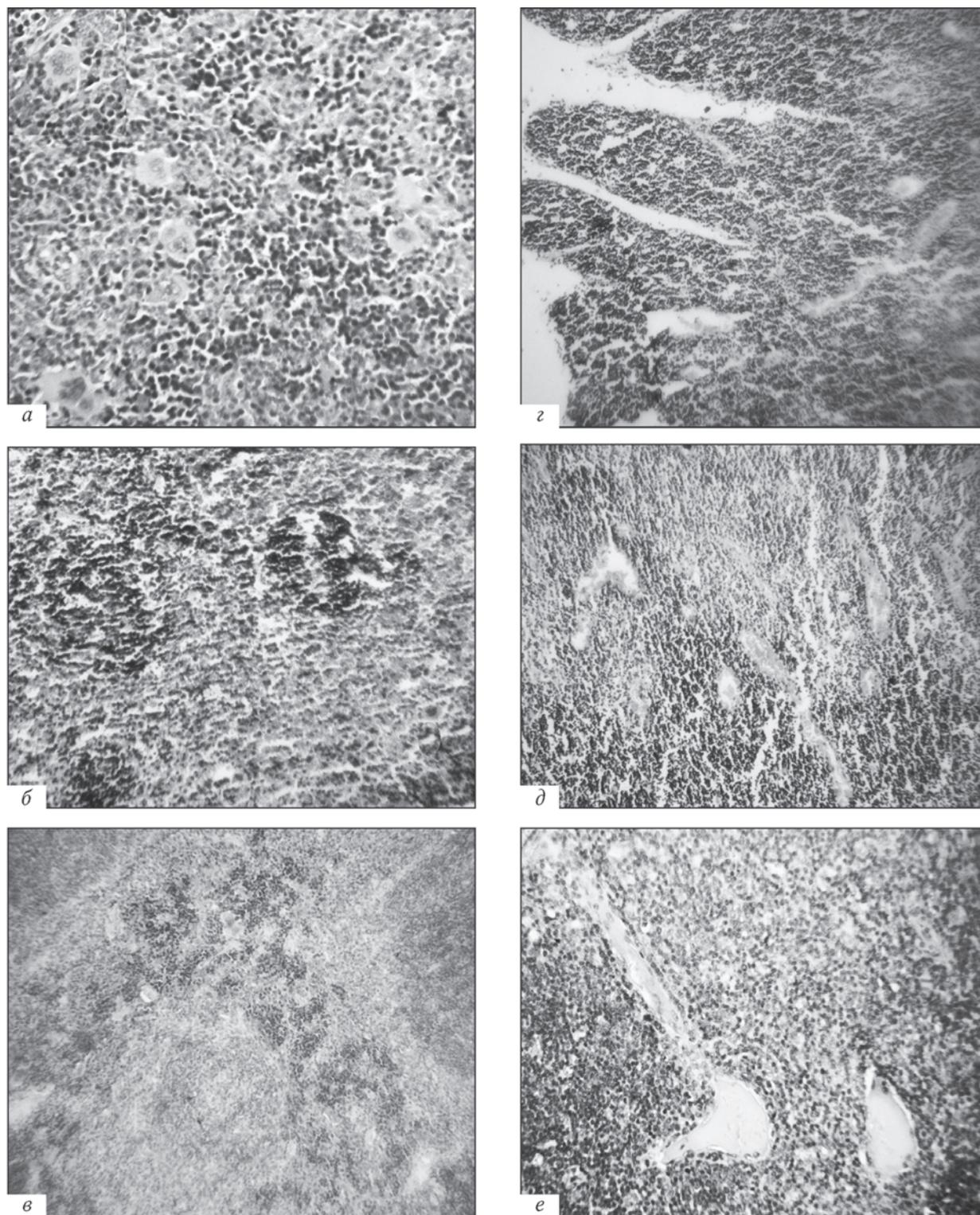
В 6-й группе, получавшей ронколейкин, на 5-е сутки инфекции (2-е сутки применения препарата) наблюдалась выраженная сосудистая реакция в виде мукоидного набухания стенки сосудов, эритродиапедеза в красной и белой пульпе с разрежением клеточности лимфоидных фолликулов. На 7-14-е сутки инфекции (4-11-е сутки применения ронколейкина) по сравнению с предыдущим сроком наблюдалась макрофагально-лимфоидная гиперплазия в красной и белой пульпе с некоторым стиранием их границ без формирования светлых центров в лимфоидных фолликулах, а также отчетливая гигантоклеточная реакция в красной пульпе. На 21-е сутки (18-е сутки применения ронколейкина) наблюдалось восстановление структуры ткани селезенки, отчетливо визуализировались крупные лимфоидные фолликулы белой пульпы.

Структура тимуса у интактных животных 1-й группы была в пределах нормы. У инфицированных пневмококком животных 2-й группы через 1 сут обнаружена миграция лимфоидных клеток из коркового в мозговой слой с расширением последнего.



**Рис. 2.** Патоморфоз пневмонии, вызванной *St. pneumoniae*, у животных 5-6-й групп. Окрашивание гематоксилином и эозином.

*a* — стимуляция фагоцитарной реакции на фоне геморрагического отека легкого при применении тинростима (5-я группа; 5-е сутки),  $\times 100$ ; *б* — гиперплазия бронхассоциированной лимфоидной ткани,  $\times 200$ ; *в* — периваскулярный инфильтрат из мононуклеаров (5-я группа; 14-е сутки),  $\times 200$ ; *з* — клеточная инфильтрация легочной ткани (6-я группа; 1-е сутки),  $\times 100$ ; *д* — остаточные явления очагового воспаления (6-я группа; 21-е сутки),  $\times 200$ .



**Рис. 3.** Патоморфологические изменения в лимфоидных органах животных, зараженных *St. pneumoniae*. Окрашивание гематоксилином и эозином.

*a* – гигантоклеточная реакция в красной пульпе селезенки (2-я группа; 1-е сутки),  $\times 200$ ; *б* – истощение лимфоидной ткани в белой пульпе (2-я группа; 3-и сутки),  $\times 100$ ; *в* – макрофагально-лимфоидная и фолликулярная гиперплазия в пульпе селезенки (5-я группа; 14-е сутки),  $\times 100$ ; *г* – гипоплазия тимуса с редукцией коркового слоя,  $\times 200$ ; *д* – с резкой сосудистой реакцией в мозговом слое (2-я группа; 3-и сутки),  $\times 100$ ; *е* – гиалиновые тромбы в просвете сосудов мозгового слоя тимуса (3-я группа; 7-е сутки),  $\times 200$ .

Клеточные повреждения не визуализировались. Через 3 сут у погибших животных наблюдались выраженные изменения, свидетельствующие об акцидентальной трансформации тимуса, что проявлялось в виде резчайшего полнокровия сосудов преимущественно в мозговом слое, резкого клеточного опустошения, гипоплазии лимфоидной ткани с истончением коркового слоя, имевшего дольчатое строение (рис. 3), вследствие чего стиралась граница между корковым и мозговым слоем.

У животных 3-й группы на 5-7-е сутки инфекции (3-5-е сутки лечения антибиотиком) структура тимуса напоминала таковую у непогибших животных 2-й группы с нерезким полнокровием сосудов в мозговом слое, в просвете некоторых сосудов обнаруживались гиалиновые тромбы (рис. 3, д). На 14-е сутки инфекции (10-е сутки применения антибиотика) на фоне умеренного полнокровия сосудов в мозговом слое увеличилась клеточность и ширина коркового слоя. На 21-е сутки инфекции картина была аналогична таковой у животных 1-й группы, но по сравнению с ними численность клеток Гассала в мозговом слое была больше.

У животных 4-й группы через 1 сут после включения ликопида в курс лечения (5-е сутки инфекции) обнаружены диапедезные кровоизлияния, в просвете некоторых сосудов определялись лимфоциты. На 7-е сутки инфекции (4-е сутки применения ликопида) картина была аналогичной таковой у животных 3-й группы. На 14-е сутки (11-е сутки применения ликопида) сохранялось полнокровие сосудов в мозговом слое, в просвете некоторых сосудов выявлялись лимфоциты. На 21-е сутки (18-е сутки применения ликопида) обнаруживались незначительное полнокровие сосудов и небольшие диапедезные кровоизлияния в мозговом и корковом слое тимуса.

У животных 5-й группы, получавших тинростим, на 5-7-е сутки инфекции (2-4-е сутки применения препарата) в тимусе обнаружены полнокровие сосудов и кровоизлияния, незначительное снижение клеточности коркового слоя. На 14-е сутки инфекции (11-е сутки применения препарата) имела место картина, аналогичная предыдущему сроку. На 21-е сутки инфекции (18-е сутки применения тинростима) сохранялось полнокровие сосудов, выявлены единичные крупные кровоизлияния с повреждением ткани тимуса.

У животных 6-й группы, получавших ронколейкин, на 5-е сутки инфекции (2-е сутки применения препарата) обнаружено полнокровие сосудов в мозговом слое тимуса. На 7-14-е сутки инфекции (4-11-е сутки применения ронколейкина) наблюдалось умеренное полнокровие сосудов преимущественно в мозговом слое, несколько расширенном

по сравнению с предыдущим сроком. На 21-е сутки (18-е сутки применения ронколейкина) картина была аналогичной наблюдаемой у интактных животных 1-й группы.

Как известно, патогенез инфекционного процесса тесно связан с реактивностью лимфоидных органов, что обеспечивает необходимый уровень специфического иммунитета и активирует факторы неспецифической противомикробной резистентности [1]. Это положение согласуется с результатами проведенных нами экспериментальных исследований, свидетельствующих о патоморфозе пневмонии, вызванной *St. pneumoniae*, под воздействием иммуностропных препаратов, оказывающих положительное влияние на динамику патологического процесса и нивелирование состояния иммунодефицита. Установлены определенные особенности эффектов применения разных препаратов — ликопида, тинростима и ронколейкина. При этом показано отчетливое преимущество тинростима относительно тканевых проявлений реактивности клеток врожденного иммунитета. Заключение о возможности применения иммуностропных препаратов, в частности тинростима, в качестве компонента базисной терапии при лечении внебольничных пневмоний было обосновано результатами экспериментальных исследований, поскольку патоморфологическая картина лимфоидных органов животных (5-я группа) свидетельствовала о наиболее выраженной стимуляции функциональной активности фагоцитирующих клеток по сравнению с таковой у животных 4-й и 6-й групп. Гибель животных в 3-6-й группах не наблюдалась.

Наши результаты обосновывают целесообразность применения тинростима для ускоренного разрешения воспалительного процесса, поскольку этот биополимер является мощным стимулятором функциональной активности фагоцитирующих клеток [3]. В сочетании с ликопидом и/или ронколейкином тинростим может быть особенно рекомендован для включения в курс базовой (антибактериальной) терапии у ослабленных пациентов при медленно разрешающейся, затяжной пневмонии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г., Барсуков В.С. // Арх. патол. 1993. № 1. С. 7-12.
2. Гельфанд Б.Р. // Анналы хирургии. 1999. № 5. С. 26-29.
3. Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. Иммуноактивные биополимеры из морских гидробионтов. Владивосток, 2007.
4. Новоженев В.Г. // Пневмония / Под ред. А.Г. Чучалина и др. М., 2002. С. 237-265.

5. Раков А.Л., Сапроненков П.М., Антух Э.А. и др. // Воен.-мед. журн. 2001. № 4. С. 36-39.
6. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Чернеховская Н.Е. Пневмония. М., 2002.
7. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. и др. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике: Пособие для врачей. М., 2005.
8. Abraham E., Matthay M.A., Dinarello C.A. et al. // Crit. Care Med. 2000. Vol. 28, N 1. P. 232-235.
9. Bone R.C., Grodzin C.J., Balk R.A. // Chest. 1997. Vol. 112, N 1. P. 235-243.
10. Cohen J., Abraham E. // J. Infect. Dis. 1999. Vol. 180, N 1. P. 116-121.
11. Docke W.D., Randow F., Syrbe U. et al. // Nat. Med. 1997. Vol. 3, N 9. P. 678-681.
12. Torres A., El-Ebiary M., Monton C. The inflammatory response in pneumonia // Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine / Ed. J.L.Vincent. N.Y., 1996.

Получено 19.12.11