

УДК [616.16:616.24-005.98]-08:577.112
DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72

Д. В. СУЛТАНОВ¹, В. К. ХУГАЕВА¹, А. В. АРДАСЕНОВ¹,
А. А. КОВАЛЕНКО^{1, 2}, А. М. ЗАСЕЕВА¹

Стимуляция лимфотока в микрососудах легких пептидом при остром отеке легких

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения

Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия

119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

E-mail: vhugaeva@mail.ru

Статья поступила в редакцию 22.03.20; принята к печати 17.07.20

Резюме

Введение. Актуальность проблемы высокой летальности при остром отеке легких (ООЛ) связана с недостаточной эффективностью способов лечения при экстремальной быстро протекающей патологии легких. **Цель** – комплексное изучение роли стимуляции лимфотока с помощью лимфостимулирующего пептида в патогенезе ООЛ в условиях биомикроскопии легких. **Материалы и методы.** Биомикроскопия легких с помощью вживленной камеры и брыжейки тонкой кишки крысы, лазерная доплеровская флоуметрия легких, морфологическое и гистологическое изучение легких. Регистрация сократительной активности стенки, клапанов лимфатических микрососудов (ЛМ) брыжейки методом фотометрии и скорости лимфотока; определение диаметра микрососудов, сухой остаток и легочный коэффициент в легких; фото- и видеорегистрация легких. **Результаты.** Лимфостимулятор прямого действия пептидной природы вызывал активацию лимфотока в ЛМ брыжейки и ткани легких при ООЛ с последующим восстановлением микрогемодикуляции в легких. Снижение и устранение отека интерстициального пространства в легких было связано с восстановлением диаметра лимфатических и венозных микрососудов. Профилактическое использование пептида сопровождалось увеличением выживаемости животных в 3 раза. Использование пептида после развития ООЛ не влияло на выживаемость, однако увеличивало продолжительность жизни быстро погибающих животных в течение первых 10 мин до суток с 16 до 46 %. **Заключение.** Активация моторики ЛМ и лимфотока при ООЛ с помощью лимфостимулятора пептидной природы – агониста дельта опиатных рецепторов – способствует устранению отека в результате выведения избытка интерстициальной жидкости через лимфатические сосуды легких в магистральные венозные коллекторы и далее в правое предсердие, чем снижает нагрузку на левую половину сердца при кардиогенном ООЛ. Восстановление микролимфо- и микрогемодикуляции в легких способствовало восстановлению структуры легочной ткани и увеличению в 3 раза выживаемости и продолжительности жизни животных. Активация лимфатической системы является эффективным, пока не используемым резервом организма, играющим важную роль в патогенезе ООЛ.

Ключевые слова: острый отек легких, биомикроскопия, микроциркуляция, активация лимфатических микрососудов, опиоидный пептид, морфология, выживаемость, крысы

Для цитирования: Султанов Д. В., Хугаева В. К., Ардасенов А. В., Коваленко А. А., Засеева А. М. Стимуляция лимфотока в микрососудах легких пептидом при остром отеке легких. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(3):64–72. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72.

UDC [616.16:616.24-005.98]-08:577.112
DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72

D. V. SULTANOV¹, V. K. KHUGAEVA¹, A. V. ARDASENOV¹,
A. A. KOVALENKO^{1, 2}, A. M. ZASEEVA¹

Lymphflow stimulation in microvessels of lung peptides in acute lung edema

¹ Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia
8, Baltic str., Moscow, Russia, 125315

² First Moscow State Medical University named after I. M. Sechenov (Sechenov University), Moscow, Russia

8, 2, Trubetskaya str., Moscow, Russia, 119991

E-mail: vhugaeva@mail.ru

Received 22.03.20; accepted 17.07.20

Summary

Introduction. The relevance of the problem of high mortality in acute lung edema (ALE) is associated with the insufficient effectiveness of treatment methods for extreme rapidly occurring lung pathology. **The goal** is a comprehensive study of the role

of lymph flow stimulation using a lymph-stimulating peptide in the pathogenesis of ALE under conditions of lung biomicroscopy. *Materials and methods.* Biomicroscopy of the lungs using an implanted chamber and mesentery of the rat small intestine, laser Doppler lung flowmetry, morphological and histological examination of the lungs. Registration of contractile activity of the wall, valves of the lymphatic microvessels of the mesentery by photometry and the rate of lymph flow; determination of the diameter of microvessels, solids and pulmonary coefficient in the lungs. photo and video registration of the lungs. *Results.* The direct peptidic lymphostimulant caused activation of lymphatic flow in the lymphatic microvessels of the mesentery and lungs in patients with ALE, followed by restoration of microcirculation in the lungs. The reduction and elimination of edema of the interstitial space in the lungs was associated with the restoration of the diameter of the lymphatic and venous microvessels. Prophylactic use of the peptide was accompanied by an increase in animal survival by 3 times. The use of the peptide after the ALE did not affect survival, however, it increased the life expectancy of rapidly dying animals during the first 10 min up to a day from 16 to 46 %. *Conclusions.* Activation of motility of the lymphatic microvessels and lymph flow in ALE with the help of a peptidic lymphostimulator, an agonist of the delta opiate receptors, helps to eliminate edema as a result of removing excess interstitial fluid through the lymphatic vessels of the lungs to the main venous collectors and then to the right atrium, than reduces the load on the left half of the heart with cardiogenic ALE. The restoration of microlymph- and microhemocirculation in the lungs contributed to the restoration of the structure of the lung tissue and a 3-fold increase in the survival and longevity of animals. Activation of the lymphatic system is an effective, but unused reserve of the body playing an important role in the pathogenesis of ALE.

Key words: acute lung edema, biomicroscopy, microcirculation, activation of lymphatic microvessels, opioid peptide, morphology, survival, rats

For citation: Sultanov D. V., Khugaeva V. K., Ardasenov A. V., Kovalenko A. A., Zaseeva A. M. Stimulation of lymphatic flow in microvessels of the lungs with peptide in acute lung edema. Regional blood circulation and microcirculation. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(3):64–72. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-64-72.

Введение

Актуальность проблемы терапии и профилактики острого отека легких (ООЛ) объясняется высокой скоростью развития патологии и высокой летальностью больных, достигающей 64–70 % [1]. Внедрение современных методов лечения позволило снизить летальность до 22–44 % [2, 3]. Однако присоединение сепсиса увеличивает летальность до 50 % [4]. Приведенные данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего поиска новых высокоэффективных способов профилактики и лечения ООЛ.

Существующие современные методы лечения ООЛ направлены на оптимизацию дыхательной функции легких, работу сердца, кровеносных сосудов, восстановление реологических свойств крови, функции почек и др. [5, 6]. Вне поля зрения оставалась лимфатическая система, играющая ключевую роль в регуляции водно-электролитного обмена организма, в частности, в легких [6, 7]. Причинами подобного состояния были: 1) длительно существовавшее представление о пассивной роли лимфатической системы; 2) методические трудности прижизненного исследования непрерывно двигающихся легких; 3) опасность возникновения пневмоторакса при вскрытии грудной клетки; 4) отсутствие эффективных лимфостимуляторов прямого действия. В качестве косвенных стимуляторов лимфотока использовали препараты, улучшающие гемодинамику, микрогемодинамику, дыхательную функцию легких, функцию почек, различные растворы (физиологический, Рингера – Локка, гемодез, раствор глюкозы и др.). Применение растворов при ООЛ могло ухудшить состояние вследствие прогрессирования отека. Использование морфина в качестве пеногасителя при ООЛ вызывало нарушение центральной регуляции дыхательной деятельности.

Переломным моментом в исследовании лимфатической системы стало открытие в 1975 г. опиоидных пептидов – лейэнкефалина (ЛЭ) и метэнкефалина – в ткани мозга у млекопитающих [8]. Поскольку эти пептиды обладали коротким обезболивающим

эффектом, большинство исследований, проводимых на протяжении первых 10 лет после открытия энкефалинов, было связано с изучением их влияния на центральную и периферическую нервную систему. Первые отечественные опиоидные пептиды были синтезированы в 1978 г. в Лаборатории синтеза пептидов (руководитель лаборатории – профессор, д-р хим. наук М. И. Титов) Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР в Москве. Руководитель ВКНЦ академик АМН и АН СССР Е. И. Чазов предложил использовать энкефалины в кардиологии, в частности, при купировании приступов стенокардии, вместо используемого в таких случаях токсичного нитроглицерина. В результате исследования синтезированных в кардиоцентре пептидов удалось обнаружить целый ряд положительных эффектов у энкефалинов. Кроме обезболивающего эффекта, обнаружили влияние на регенерацию нервов и кровеносных сосудов [9, 10], влияние на активность различных ферментов и гормонов [11, 12]. Первый отечественный пептидный препарат Даларгин (аналог ЛЭ) оказался эффективным при панкреатите и язвенной болезни желудка [13, 14]. Нами было обнаружено лимфостимулирующее действие ЛЭ [15]. Оно заключалось в увеличении сократительной активности стенки, клапанов, скорости лимфотока и лимфообразования в ответ на аппликацию на поверхность лимфатических микрососудов (ЛМ) брыжейки тонкой кишки крысы ЛЭ в дозе от 0,04 мкг/кг в 0,1 мл 0,9 %-го раствора NaCl (пороговая доза) до 40,0 мкг/кг (максимальная доза). Более высокие дозы не влияли на моторику ЛМ или вызывали торможение сокращения. Дальнейшее изучение влияния агонистов и антагонистов опиатных рецепторов позволило установить наличие опиоидергической регуляции у ЛМ [16]. Лимфостимулирующим действием обладали тирозинсодержащие аналоги ЛЭ, агонисты дельта-опиатных рецепторов. Дальнейшие экспериментальные исследования различных аналогов ЛЭ и Даларгина, обладающих лимфостимулирующим

Изменение диаметра широких капилляров легкого крыс в контроле, при введении адреналина и лимфостимулирующего пептида в условиях биомикроскопии

Table 1

The change in the diameter of the wide capillaries of the lung of rats in the control, at the introduction of adrenaline and lymphatic stimulation peptides in terms biomicroscopy

№ п/п	Воздействие	N	Диаметр широких капилляров, мкм		
			исходное состояние	внутрибрюшинное введение веществ	
				1–10 мин	11–60 мин
1	Интактное животное	5	35,8±0,7	35,8±1,1	35,8±0,9
2	0,9 %-й NaCl	5	35,6±1,3	36,2±1,1	35,9±0,9
3	Пептид № 171	5	35,8±1,1	36,4±1,0	36,2±1,3
4	Адреналин	10	36,0±0,8	65,1±2,0°	62,2±1,8°
5	Пептид № 171 + адреналин	10	35,8±1,1	47,8±2,1*°	46,3±1,4*°
6	Адреналин + пептид 171	10	35,8±0,7	55,3±1,2*°	53,8±1,7*°

Примечание: n – число животных; ° – значимые отличия от контрольных групп № 1, 2, 3 и исходного состояния (P<0,05); * – значимое отличие от группы № 4 (адреналин, ООЛ) (P<0,05).

действием, показали их эффективность при различных видах патологии, сопровождающейся ишемией и воспалением [17–19].

В связи с изложенным целью исследования являлось экспериментальное изучение влияния лимфостимулятора пептидной природы на динамику ООЛ с использованием прижизненных прямых и косвенных методов биомикроскопии, а также морфологических и гистологических методов исследования легких.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на 219 беспородных белых крысах-самцах массой 200–250 г в соответствии с правилами работы с животными, указанными в Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (Директива 2010/63/EU, 2012 г.).

Животных наркотизировали 8 %-м раствором хлоралгидрата (0,6 г/кг), разведенным в 0,9 %-м растворе NaCl при внутримышечном введении.

Микроциркуляцию легких в условиях биомикроскопии изучали с помощью модифицированной камеры [20] с использованием контактного объектива с увеличением ×10 фирмы «ЛОМО» (Россия). В условиях биомикроскопии регистрировали диаметр широких капилляров субплевральной области легких. Лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ) легких осуществляли с помощью прибора ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия) с использованием программного обеспечения для обработки информации техники «ЛАКК», версия 3.0.2.384. Определяли показатель микроциркуляции (ПМ), косвенно отражающий скорость кровотока в капиллярах легких в условных единицах. Контрольное измерение в течение 15 мин принимали за среднюю величину, равную 100 %. Дальнейшие измерения рассчитывали в процентах относительно средней величины.

Кардиогенный острый отек легких создавали с помощью внутрибрюшинного введения адреналина

гидрохлорида (0,1 %-й раствор) в дозе 1,0 мл на 100 г массы крысы (10,0 мг/кг). Модель характеризовалась простотой исполнения и стандартностью воспроизведения ООЛ.

В качестве лимфостимулятора использовали пептид с условным названием «№ 171», являющийся агонистом дельта опиатных рецепторов и имеющий структурную формулу: Тур-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Glu. Гексапептид, синтезированный в лаборатории синтеза пептидов «Российского кардиологического научно-производственного комплекса» Минздрава России, является аналогом лейэнкефалина и даларгина. В условиях биомикроскопии пептид апплицировали на поверхность ЛМ брыжейки тонкой кишки в дозе 40,0 мкг/кг в 1,0 мл 0,9 %-го изотонического раствора хлорида натрия при изучении его влияния на моторику стенки и клапана методом оптической фотометрии [21]. Скорость лимфотока в ЛМ в четырех состояниях определяли визуально: «–» – стаз (остановка лимфотока); «+» – маятникообразное движение лимфы без продвижения в центральном направлении; «++» – слабый лимфоток с продвижением лимфы в центральном направлении; «+++» – интенсивный лимфоток с короткими (1–2 с) паузами между движениями лимфы.

Внутрибрюшинно пептид вводили за 15 мин до моделирования ООЛ (профилактическое введение) и сразу после развития ООЛ (в течение 1 мин с лечебной целью) в дозе 40,0 мкг/кг в 1,0 мл.

Оценка тяжести ООЛ у животных осуществляли на основании морфологического исследования ткани легких. Количественная оценка проводилась при определении легочного коэффициента (ЛК): отношение массы легочного комплекса к массе животного:

ЛК = масса легких (г) · 1000/масса животного (г) и сухого остатка легких (СО), определяющего количество избыточной жидкости в легких:

$$СО (\%) = \frac{\text{масса высушенных легких}}{\text{масса влажных легких}} [22].$$

Гистологическое исследование легких проводили после фиксации легочных комплексов в нейтральном

10 %-м растворе формалина, заливки парафином и изготовления срезов с помощью микротомы «Microm 340» с последующей окраской гематоксилином и эозином.

Фото- и видеосъемка микрососудов проводилась с помощью камеры DCM-310. Микроскопирование проводилось с помощью микроскопов ЛЮОММ И-2 («ЛЮМО», Россия) и МБИ-15 (увеличение от $\times 20$ до $\times 600$), окуляры с увеличением $\times 7$, $\times 8$, $\times 10$, $\times 15$ и объективы с увеличением $\times 2$, $\times 8$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программ «Statistica 6.0» и «Microsoft Office Excel». Различия считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования, в зависимости от выживаемости животных при остром отеке легких, представлены в трех группах: 1-я группа – погибшие в течение первых 10 мин после введения адреналина (71 % изученных животных с ООЛ); 2-я группа – погибшие в течение первых суток (16 %); 3-я группа – выжившие животные (13 %).

Особенности строения широких капилляров и функционирования микроциркуляции в легких, исследованные с помощью модифицированной камеры [20] в условиях биомикроскопии в контрольных опытах, были подробно описаны ранее [23]. Отметим лишь факт наличия зависимости и взаимосвязи степени нарушения микроциркуляции в легких при ООЛ (замедление скорости кровотока, развитие маятникообразного перемещения крови в капиллярах до полной остановки кровотока в течение первых минут после введения адреналина) с прогнозом летальности или выживаемости животного.

В табл. 1 приведены результаты динамики диаметра широких капилляров легких крысы в контрольных опытах после моделирования ООЛ с помощью внутрибрюшинного введения адреналина, а также введения лимфостимулирующего пептида до и после моделирования ООЛ.

Микроциркуляция легких по данным биомикроскопии

В контрольных опытах (интактные животные, животные с внутрибрюшинным введением 0,9 %-го NaCl и пептида № 171) нарушений микроциркуляции в легких не наблюдали. При сравнении диаметра широких капилляров разных контрольных групп значимых отличий не выявлено (табл. 1).

Внутрибрюшинное введение адреналина (40,0 мкг/кг в 1 мл) характеризовалось значительными нарушениями циркуляции крови в микрососудах легких. Через 5–10 с после введения адреналина во всех случаях скорость кровотока заметно снижалась. Появлялось маятникообразное и пульсирующее движение форменных элементов крови. В 70 % случаев в течение 10 мин происходила полная остановка кровотока. У 20 % подопытных животных маятникообразное движение форменных элементов крови наблюдалось на протяжении 60 мин, заканчивавшееся полной остановкой кровотока и летальностью животного. Только у 10 % животных кровотоков

не останавливался и со временем начинал восстанавливаться. После внутрибрюшинного введения адреналина (табл. 1) просвет широких капилляров легких значительно увеличивался и становился в 1,8 раза больше по сравнению с исходным состоянием ($P < 0,05$). На протяжении 1 ч диаметр широких капилляров имел тенденцию к уменьшению, однако эти изменения были незначимы ($P > 0,05$).

При предварительном введении пептида № 171 (табл. 1, № 5) первые 5–10 с после введения адреналина наблюдалось замедление скорости кровотока, переходящее в пульсирующий и маятникообразный кровоток. В 60 % случаев кровотоков останавливался в течение первых 10 мин после введения адреналина. Через 60 мин еще 10 % животных, у которых останавливался кровоток, также погибли. В 30 % случаев наблюдался пульсирующий маятникообразный кровоток, и в этой группе животных кровотоков постепенно восстанавливался. При моделировании ООЛ после введения пептида № 171 диаметр широких капилляров увеличивался в 1,3 раза по сравнению с исходным значением ($P < 0,05$) (табл. 1), что было значительно меньше степени увеличения диаметра капилляров у животных, которым вводили только адреналин (увеличение диаметра широких капилляров в 1,8 раза). Наблюдаемая реакция связана с активацией лимфатической системы и интерстициального транспорта жидкости в легких. На фоне использования пептида снижение вазодилатации в капиллярах легких отражает усиление дренажа жидкости из интерстициального пространства легких благодаря активации моторной функции лимфатических сосудов. Эффект пептида не был связан с влиянием на кровеносную систему легких в связи с тем, что ранее было показано, что действие лейэнкефалина на артериолы и вены было слабо выражено и непродолжительно [15].

С лечебной целью пептид № 171 вводили сразу после введения адреналина (в течение 1 мин). Аналогично с предыдущими исследованиями с адреналином, кровотоков замедлялся, возникал маятникообразный кровоток. У 50 % животных в течение первых 10 мин наблюдался стаз в микрососудах легких. В 40 % экспериментов наличие маятникообразного кровотока в течение 60 мин завершалось гибелью животных. У оставшихся 10 % животных на протяжении 30 мин наблюдался замедленный кровоток, который постепенно начинал восстанавливаться. Использование пептида № 171 с лечебной целью вызывало менее значительную дилатацию капилляров по сравнению с применением адреналина, однако лечебный эффект был менее выражен по сравнению с профилактическим введением пептида. Причина этого явления, по-видимому, связана с меньшим временем воздействия пептида при использовании его с лечебной целью (пептид вводили сразу после введения адреналина).

Следовательно, использованный при ООЛ лимфостимулирующий пептид способствовал улучшению микроциркуляции в капиллярах легких и уменьшению диаметра широких капилляров. Снижение гидростатического давления в капиллярной сети способствовало уменьшению отека в легких.

Влияние 0,9 %-го изотонического раствора NaCl, пептида № 171 и адреналина на показатель микроциркуляции по данным лазерной доплеровской флоуметрии

Table 2

Effect of 0.9 % isotonic NaCl solution, peptide N171 and adrenaline on PM according to LDF

N п/п	Воздействие	n	Воздействие	Исходное значение ПМ		Динамика ПМ (в % к исходному значению = 100 %)	
				усл. ед.	%	1–10 мин	11–60 мин
1	0,9 % NaCl	5	0,9 % NaCl	20,8±1,2	100,0	97,2±2,3	89,6±3,4
2	Пептид № 171	5	Пептид № 171	20,6±1,0	100,0	136,7±6,8 ^{o*}	135,4±6,9 ^{o*}
3	Адреналин	10	Адреналин	21,1±0,7	100,0	60,4±1,7 ^o	55,8±3,5 ^o
4	Пептид № 171 + адреналин	10	Пептид № 171 + адреналин	20,8±0,6	100,0	80,2±2,4 ^{o*}	80,4±1,6 ^{o*}
5	Адреналин + пептид № 171	10	Адреналин + пептид № 171	20,6±0,6	100,0	68,2±1,7 ^{o*}	75,0±1,9 ^{o*}

Пр и м е ч а н и е: n – число животных; ПМ – показатель микроциркуляции; ^o – значимые отличия от контрольных групп № 1, 2 и исходного состояния (P<0,05); * – значимое отличие от группы № 3 (адреналин, ООЛ) (P<0,05).

Микроциркуляция легких по данным лазерной доплеровской флоуметрии

Косвенный метод изучения микроциркуляции в легких с помощью ЛДФ позволял оценить объемный кровоток в 1 мм³ ткани. Поскольку пептид растворяли в 0,9 %-м растворе NaCl, в контрольных опытах было изучено его влияние на показатель микроциркуляции, отражающий скорость капиллярного кровотока (табл. 2).

При биомикроскопии легких, брыжейки тонкой кишки в ответ на введение 1,0 мл 0,9 %-го NaCl всегда наблюдали увеличение скорости кровотока в сосудах микроциркуляторного русла, включая капилляры. Противоположная реакция, полученная с помощью ЛДФ в наших экспериментах, объясняется гемодилуцией. На фоне увеличения скорости кровотока концентрация эритроцитов в единице объема уменьшается. Метод ЛДФ основан на фиксации числа эритроцитов в единице объема. Уменьшение числа эритроцитов и отраженных от них лазерных лучей отразилось на небольшом снижении ПМ (табл. 2).

Введение лимфостимулирующего пептида № 171, несмотря на гемодилуцию, вызываемую растворителем, сопровождалось увеличением ПМ на 36 % по сравнению с исходным состоянием, принимаемым за 100 %, на протяжении всего периода наблюдения (60 мин) благодаря лимфостимулирующему действию пептида (табл. 2). В просвете ЛМ находятся различные клетки крови, включая эритроциты, которые, наряду с увеличением скорости лимфотока, в ответ на введение лимфостимулятора вносят вклад в увеличение ПМ.

Внутрибрюшинное введение адреналина, вызывающего ООЛ, сопровождалось в первые 10 мин снижением ПМ на 40 % (табл. 2). Снижение скорости кровотока сохранялось и прогрессировало в течение 60 мин после моделирования ООЛ. Адреналин в тех же условиях при биомикроскопии легких вызывал замедление скорости кровотока и стаз в кровеносных капиллярах легкого, что соответствует результатам ЛДФ.

Применение пептида с профилактической целью за 15 мин до введения адреналина и развития ООЛ

сопровождалось снижением ПМ, но в значительно меньшей степени (на 20 % меньше) по сравнению с не лечеными животными (табл. 2). Этот уровень ПМ сохранялся на протяжении 60 мин наблюдения ООЛ.

Введение пептида с лечебной целью сразу после введения адреналина в первые 10 мин развития ООЛ было менее эффективно по сравнению с профилактическим действием пептида (ПМ снизился на 32 %). Причина более низкой эффективности, по-видимому, – короткий период действия пептида (от 1 до 10 мин). При более длительном периоде воздействия лимфостимулятора в течение 11–60 мин отмечалась положительная динамика ПМ, который увеличился на 7 % по сравнению с первыми минутами измерения (табл. 2).

Следовательно, лимфостимулирующий пептид № 171, увеличивающий в контрольных опытах микроциркуляцию в капиллярах легких на 36 %, при профилактическом и лечебном способе применения при ООЛ предотвращает резкое снижение микроциркуляции в капиллярных сосудах легких (в 2 раза меньше снижение ПМ при профилактическом введении). В большей степени эффект проявляется при профилактическом применении пептида по сравнению с лечебным способом введения.

Морфология легких

С целью выявления особенностей патогенеза ООЛ в ответ на введение лимфостимулятора определяли легочный коэффициент и сухой остаток легких, характеризующие количество жидкости в легких.

На рис. 1 показаны изменения легочного коэффициента (ЛК) в контроле, при воздействии адреналина и пептида № 171. В группе быстро погибающих животных определялся обширный отек легких по сравнению с контрольными опытами (P<0,01). ЛК в ответ на введение адреналина увеличивался на 180 % по сравнению с контрольными животными. Большинство животных погибали в первые 5 мин после введения адреналина.

Отсутствие эффекта на пептид в группе быстро погибающих животных, возможно, связано с кратковременностью периода между введением пептида и

быстрым развитием отека легких с летальным исходом (1–5 мин). В условиях нарушенного кровообращения доставка пептида, введенного внутривенно, замедлена. Введение пептида непосредственно в легкие, возможно, оказалось бы более эффективным.

В группе выживших животных наилучший результат получен при профилактическом применении пептида: ЛК не отличался от контрольной группы ($P>0,05$). Также эффективно действовал пептид при введении после развития ООЛ: ЛК увеличился на 22 % ($P>0,05$ по сравнению с контролем). Наихудший результат в группе выживших животных имел место при введении одного адреналина: ЛК увеличился на 72 % ($P<0,05$ по сравнению с контролем и применением пептида). Стимуляция лимфотока практически восстановила нормальную гидратацию легких благодаря увеличению лимфатического дренажа в легких.

Аналогичные закономерности получены по результатам определения сухого остатка (СО) легких в контрольных опытах, при введении адреналина и пептида № 171 (рис. 2).

В группе быстро погибающих в течение 10 мин животных СО при воздействии адреналина снижался на 38 %. Введение пептида не оказывало влияния на величину СО при профилактическом и лечебном способе введения. Молниеносное развитие ООЛ у части животных могло быть причиной неэффективности пептида. В группе выживших животных сухой остаток при использовании пептида не отличался от контрольных результатов ($P>0,05$).

У быстро погибающих животных всегда отмечали наличие обширных отеков, что подтверждают данные рис. 1; 2.

Гистологическое исследование легких

Результаты гистологического исследования легких в трех группах, в зависимости от продолжительности жизни животных (до 10 мин; до 1 суток; выжившие животные) показаны на рис. 3. Анализ полученных результатов изменения диаметра венул, лимфатических микрососудов, толщины межальвеолярных перегородок в контрольных опытах, при воздействии адреналина и лимфостимулирующего пептида № 171 (рис. 3) свидетельствуют о следующем: 1) по мере увеличения выживаемости уменьшается диаметр венул, ЛМ, толщина межальвеолярной перегородки, увеличенные при воздействии адреналина и развитии ООЛ; 2) у выживших животных эти показатели не отличаются от контрольных значений; 3) пептид не влиял на диаметр венул и толщину межальвеолярной перегородки у животных, погибающих в течение 10 мин при ООЛ, но уменьшал диаметр ЛМ при профилактическом применении в этой группе животных ($P<0,05$) по сравнению с нелечеными животными с ООЛ и группой с введением пептида после развития ООЛ. Этот результат свидетельствует о первоначальном воздействии пептида на ЛМ легких. Восстановление диаметра венул возникало позднее, после восстановления лимфоциркуляции в легких, снижения гидростатического давления вследствие активного лимфатического дренажа в легких.

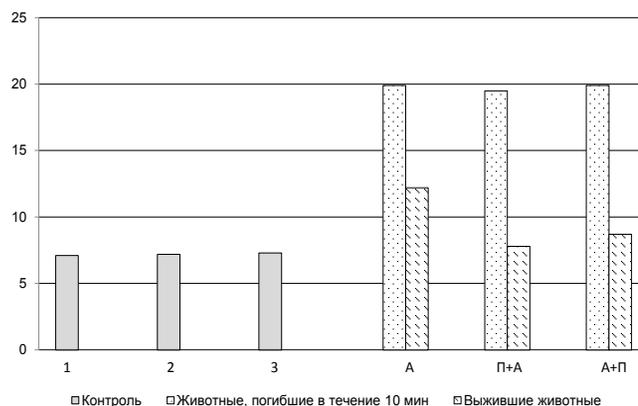


Рис. 1. Легочный коэффициент (ЛК) в контроле, при воздействии адреналина и лимфостимулирующего пептида № 171. По оси ординат – ЛК в относительных единицах; по оси абсцисс – Контроль: 1 – интактное животное; 2 – физиологический раствор; 3 – пептид № 171; А – адреналин; П – пептид. Первый парный столбик – животные, погибшие в течение 10 мин при ООЛ; второй парный столбик – выжившие животные

Fig. 1. Pulmonary coefficient (PC) in control when exposed to adrenaline and lymphostimulating peptide № 171. On the ordinate axis – PC in relative units; abscissa – Control: 1 – intact animal; 2 – saline solution; 3 – peptide № 171; А – adrenaline, П – peptide. The first paired column – animals that died during 10 minutes with ALE, the second is surviving animals

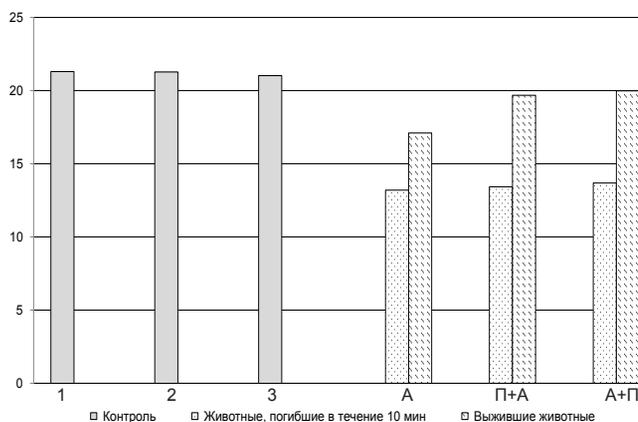


Рис. 2. Сухой остаток в контроле, при воздействии адреналина и лимфостимулирующего пептида № 171. Обозначения аналогичны рис. 1

Fig. 2. The dry residue in the control, under the influence of adrenaline and lymph-stimulating peptide № 171. Designations are similar to Fig. 1

Влияние пептида № 171 на выживаемость животных при ООЛ

ООЛ, вызываемый адреналином, быстро развивается, в течение 4–5 мин, вызывает высокую летальность крыс (табл. 3). Профилактическое использование пептида № 171 в дозе 40,0 мкг/кг в 1,0 мл 0,9 %-го раствора NaCl за 15 мин до введения адреналина способствовало снижению летальности в ранний срок (первые 10 мин) развития ООЛ и увеличивало выживаемость в 3 раза. Введение пептида с лечебной целью сразу после введения адреналина также снижало летальность в ранний срок развития ООЛ, увеличив в 3 раза численность животных с продолжительностью жизни до 1 суток. В клинике увеличение срока жизни при ООЛ играет важную роль, поскольку позволяет в условиях быстро развивающегося экстремального состояния оказать медицинскую помощь.

Таким образом, в зависимости от времени применения пептида до или после возникновения ООЛ

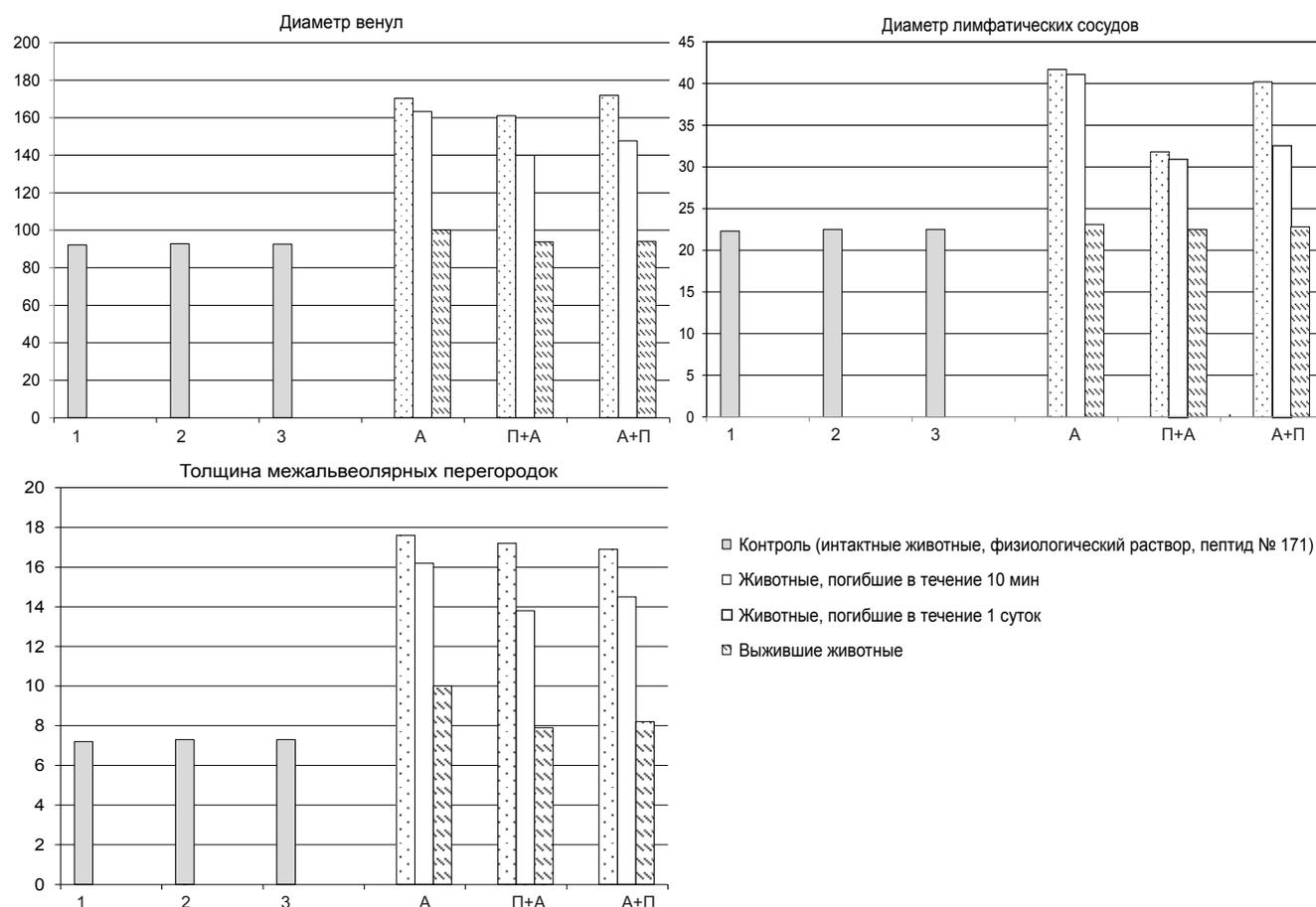


Рис. 3. Изменение диаметра венул, лимфатических микрососудов и толщины межальвеолярной перегородки легких при ООЛ в контроле, при воздействии адреналина и пептида № 171 у животных с различной продолжительностью жизни. Одинарные столбики – контроль (1 – интактные животные, 2 – в/бр. физиологический раствор, 3 – пептид № 171); тройные столбики – продолжительность жизни (1-й – до 10 мин, 2-й – до 1 суток, 3-й – выжившие животные)

Fig. 3. Change in the diameter of venules, lymphatic microvessels, and the thickness of the interalveolar septum of the lungs with ALO in the control, under the influence of adrenaline and peptide № 171 in animals with different lifespan. Single columns – control (1 – intact animals, 2 – in/br. Physiological solution, 3 – peptide № 171); triple bars – life expectancy (1st – up to 10 minutes, 2nd – up to 1 day, 3rd – surviving animals)

Таблица 3

Влияние пептида № 171 на продолжительность жизни крыс при остром отеке легких

Table 3

The effect of peptide No 171 on the life span of rats with acute pulmonary edema

Воздействие	Продолжительность жизни				Выжившие, %
	до 10 мин		до 1 суток		
	мин	%	мин	%	
Адреналин (n=31)	5,23±0,59	71	18,8±4,49	16,1	12,9
Пептид № 171 + адреналин (n=24)	5,73±0,68	45,8	20,5±2,89	16,7	37,5
Адреналин + пептид №171 (n=24)	4,33±0,59	37,5	49,91±10,32	45,8	16,7

n – число животных

можно повысить продолжительность жизни или увеличить выживаемость.

Заключение

Комплексное изучение роли стимуляции лимфотока с помощью лимфостимулирующего пептида № 171, агониста дельта-опиатных рецептор, в патогенезе ООЛ показало высокую эффективность метода лимфостимуляции, способствующего не только восстановлению микролимфо-, но и микрогемодикуляции

в легких, устранению отека в легких, увеличению выживаемости и снижению летальности животных.

Использование различных методов изучения микроциркуляции легких – биомикроскопии с помощью камеры, лазерной доплеровской флоуметрии, морфологического и гистологического – позволило получить однонаправленные и взаимодополняющие результаты относительно важной роли стимуляции лимфотока в патогенезе ООЛ, являющегося быстро протекающим экстремальным состоянием.

Прямое воздействие пептида на опиатные рецепторы ЛМ легких активирует сократительную активность ЛМ, следствием которого является увеличение скорости лимфотока. Механическая активация лимфооттока способствует усилению не только транспортной, но и других многочисленных функций лимфатической системы (лимфообразование, регуляция водно-электролитного и белкового обмена, иммунная, резорбционная, дренажная, дезинтоксикационная, синтезирующая пептиды, противоаллергическая). Запуск многочисленных функций лимфатической системы с помощью опиоидного пептида, активирующего опиоидергическую регуляцию лимфатической системы, оказывает противоишемическое [17], противовоспалительное и противоаллергическое действие [18, 19], увеличивая скорость регенерации сосудов и нервов [9, 10]. Пептид № 171, эффективный при экспериментальном ООЛ, надеюсь, после проверки займет свое место в реанимационных отделениях клинической медицины.

Финансирование / Financing

Исследование не имело спонсорской поддержки. / The study did not have sponsorship.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Milberg JA, Davis DR, Steinberg KP et al. Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983–1993. *JAMA*. 1995;273(4):306–309.
2. Erickson SE, Martin GS, Davis JL et al. Recent trends in acute lung injury mortality: 1996–2005. *Crit Care Med*. 2009;37(5):1574–1579.
3. Laycock H, Rajah A. Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome: A Review Article. *BJMP*. 2010;3(2):324.
4. Stapleton RD, Wang BM, Hudson LD et al. Causes and timing of death in patients with ARDS. *Chest*. 2005;128(2):525–532.
5. Чучалин А. Г. Отек легких: лечебные программы // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2005. – Т. 4. – С. 2–9. [*Chuchalin AG. Otek legkikh: lechebny'e programy. Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya*. 2005;4:2–9. (In Russ.)].
6. Яковлев В. Н., Алексеев В. Г. Отек легких: различия патогенеза и лечения. – М.: Наука, 2012. – 80 с. [*Yakovlev VN, Alekseev VG. Otek legkikh: razlichiya patogeneza i lecheniya*. Moscow, Nauka, 2012:80. (In Russ.)].
7. Чучалин А. Г. Отек легких. Физиология легочного кровообращения и патофизиология отека легких // *Терапевт. арх.* – 2006. – Т. 78, № 3. – С. 5–13. [*Chuchalin AG. Otek legkikh. Fiziologiya legochnogo krovoobrashcheniya i patofiziologiya oteka legkikh. Terapevticheskij arkhiv*. 2006;78(3):5–13. (In Russ.)].
8. Hughes J, Kosterlitz HW, Smith TW. The distribution of methionine enkephalin and leucine enkephalin in the brain and peripheral tissues. *Brit. J. Pharmacol*. 1977;61:639–648.
9. Акоев Г. Н., Ильинский О. Б., Колосова Л. И. и др. Влияние опиоидного пептида даларгина на регенерацию седлищного нерва крысы // *Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова*. – 1989. – Т. 75, № 1. – С. 33–37. [*Akoev GN, Il'inskij OB, Kolosova LI, Titov MI, Trofimova OG. Vliyanie*

opioidnogo peptida dalargina na regeneracziyu sedalishhnogo nerva kry'sy. Fiziologicheskij zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova. 1989;75(1):33–37. (In Russ.)].

10. Реутов М. И. Динамика репаративного ангиогенеза и реакции новообразованного микроциркуляторного русла на ишемию и лекарственные вещества: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1990. – 22 с. [*Reutov MI. Dinamika reparativnogo angiogeneza i reakcii novoobrazovannogo mikrocirkulyatornogo rusla na ishemiyu i lekarstvenny'e veshchestva*. Avtoreferat dissertacii ... kandidata medicinskikh nauk. Moscow, 1990:22. (In Russ.)].

11. Золоев Г. К. Об участии лей-энкефалина в регуляции углеводного обмена // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1987. – № 5. – С. 515–517. [*Zoloev GK. Ob uchastii lej-e'nfefalina v regulyaczii uglevodnogo obmena*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1987;(5):515–517. (In Russ.)].

12. Слепушкин В. Д., Лишманов Ю. Б., Федотова Т. В. и др. Исследование содержания гормонов гипофизарно-надпочечниковой системы в крови у больных острым инфарктом миокарда при лечении отечественным гексапептидом даларгином // *Кардиология*. – 1987. – Т. 27, № 9. – С. 110–112. [*Slepushkin VD, Lishmanov YuB, Fedotova TV, Zoloev GK, Mirza VG, Maksimov IV. Issledovanie sodержaniya gormonov gipofizarno-nadpochechnikovej sistemy v krvi u bol'ny'kh ostrym infarktom miokarda pri lechenii otechestvenny'm geksapeptidom dalarginom*. *Kardiologiya*. 1987;27(9):110–112. (In Russ.)].

13. Влияние опиоидных пептидов на лимфатический дренаж поджелудочной железы крыс и собак // В. А. Виноградов, Ю. С. Эгамов, В. М. Полонский, С. У. Джумбаев // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1988. – Т. 105, № 3. – С. 259–261. [*Vinogradov VA, E'gamon YuS, Polonskij VM, Dzhumbaev SU. Vliyanie opioidny'kh peptidov na limfaticeskij drenazh podzheludochnoj zhelezy kry's i sobak*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1988;105(3):259–261. (In Russ.)].

14. Полонский В. М., Ярыгин К. Н., Кривошеев О. Г. и др. Место приложения (центральное или периферическое) противоязвенного действия синтетического аналога эндогенных опиоидов даларгина в экспериментальной модели цистеаминовых дуоденальных язв // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1987. – Т. 103, № 4. – С. 433–434. [*Polonskij VM, Yarygin KN, Krivosheev OG, Moskovkin GN, Vinogradov VA. Mesto prilozheniya (czentral'noe ili perifericheskoe) protivoyazvennogo dejstviya sinteticheskogo analoga e'ndogenny'kh opioidov dalargina v e'ksperimental'noj modeli czisteaminovy'kh duodenal'ny'kh yazv*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1987;103(4):433–434. (In Russ.)].

15. Хугаева В. К., Сучков В. В. Влияние энкефалина на микроциркуляторное русло // *Бюл. ВКНЦ АМН СССР*. – 1980. – № 1. – С. 92–96. [*Khugaeva VK, Suchkov VV. Vliyanie e'nfefalina na mikrocirkulyatornoe ruslo*. *Bulleten' VKNCz AMN SSSR*. 1980;(1):92–96. (In Russ.)].

16. Хугаева В. К. Влияние даларгина на микрогемо- и микролимфоциркуляцию // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1988. – Т. 105, № 3. – С. 300–302. [*Khugaeva VK. Vliyanie dalargina na mikroгемо- i mikrolimfocirkulyacziyu*. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1988;105(3):300–302. (In Russ.)].

17. Хугаева В. К. Нарушение мозгового кровотока при ишемии и его коррекция с помощью лей-энкефалина // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1991. – Т. 112, № 8. – С. 117–120. [*Khugaeva VK. Narushenie mozgovogo krovotoka pri ishemii i ego korrekciya s pomoshh'yu*

lej-e`nkefalina. Вжulleten`jeksperimental`noj biologii i mediciny. 1991;112(8):117–120. (In Russ.).

18. Ардасенов А. В., Хугаева В. К., Александров П. Н. Микроциркуляторное русло кожи в условиях воспаления и коррекции методом лимфостимуляции. – М.: Научный мир, 2004. – 149 с. [Ardasenov AV, Khugaeva VK, Aleksandrov PN. Mikrocirkulyatornoe ruslo kozhi v usloviyakh vospaleniya i korrekczii metodom limfostimulyaczii. Moscow, Nauchnyj mir, 2004:149. (In Russ.).]

19. Коваленко А. А., Хугаева В. К. Экспериментальное обоснование применения синтетического пептида в комплексном хирургическом лечении острой кишечной непроходимости // Патогенез. – 2018. – Т. 16, № 4. – С. 138–140. [Kovalenko AA, Khugaeva VK. E`ksperimental`noe obosnovanie primeneniya sinteticheskogo peptida v kompleksnom khirurgicheskom lechenii ostroj kishechnoj neprokhodimosti. Patogenez. 2018;16(4):138–140. (In Russ.).] Doi: 10/25557/2310-0435.2018.04.138-140.

20. Султанов Д. В., Хугаева В. К. Метод прижизненного изучения микроциркуляции легких у крыс с помощью модифицированной камеры // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2014. – Т. 58, № 3. – С. 102–104. [Sultanov DV, Khugaeva VK. Metod prizhiznennogo izucheniya mikrocirkulyaczii lyogkikh u kry`s s pomoshh`yu modifizirovannoj kamery`. Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental`naja terapija. 2014;58(3):102–104. (In Russ.).]

21. Александров П. Н., Хугаева В. К. Метод прижизненной регистрации сокращений стенок и клапанов лимфатических микрососудов // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1989. – № 4. – С. 65–67. [Aleksandrov PN, Khugaeva VK. Metod prizhiznennoj registraczii sokrashhenij stenok i klapanov limfaticheskikh mikrososudov. Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental`naja terapija. 1989;(4):65–67. (In Russ.).]

22. Терехов И. В., Дзюба М. А., Бондарь С. С. и др. Оценка альвеолярно-капиллярных нарушений при развитии тяжелого гемодинамического отека легких у крыс и их коррекция с помощью СВЧ-излучения // Саратов. науч.-мед. журн. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 389–392. [Terekhov IV, Dzyuba MA, Bondar`SS et al. Oczenka al`veolyarno-kapillyarny`kh narushenij pri razvittii tyazhelogo gemodinamicheskogo oteka legkikh u kry`s i ikh korrekcziya s pomoshh`yu SVCh-izlucheniya. Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2011;7(2):389–392. (In Russ.).]

23. Султанов Д. В., Хугаева В. К., Ардасенов А. В. и др. Микроциркуляция легких при остром отеке легких // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 96–103. [Sultanov DV, Khugaeva VK, Ardasenov AV, Kovalenko AA, Zaseeva AM. Mikrocirkulyaczija lyogkikh pri ostrom otyoke lyogkikh. Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkulyaczija. 2019;18(1):96–103. (In Russ.).] Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-1-96-103.

Информация об авторах

Султанов Делюс Вилевич – канд. мед. наук, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: delsv2005@mail.ru.

Хугаева Валентина Каргоевна – д-р мед. наук, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: vhugaeva@mail.ru.

Ардасенов Алан Валерьевич – канд. мед. наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: ardasenov@rambler.ru.

Коваленко Алексей Анатольевич – младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии (ранее), Москва, e-mail: alexeykovalenko@yandex.ru.

Засеева Алана Моисеевна – младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, e-mail: alzasmoj@mail.ru.

Information about authors

Sultanov Delyus V. – Ph. D., junior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: delsv2005@mail.ru.

Khugaeva Valentina K. – MD, Ph.D., Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: vhugaeva@mail.ru.

Ardasenov Alan V. – Ph. D., senior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: ardasenov@rambler.ru.

Kovalenko Alexey A. – junior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology (earlier), Moscow, e-mail: alexeykovalenko@yandex.ru.

Zaseeva Alana M. – junior researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: alzasmoj@mail.ru.