

СТРУКТУРНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ ВОЗДУХОНОСНЫХ И РЕСПИРАТОРНЫХ ОТДЕЛОВ ЛЕГКИХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ

В статье показана структурная реорганизация воздухоносных и респираторных отделов легких белых беспородных крыс при воздействии газовой смеси (природный газ + воздух) с различным содержанием в ней сероводорода (малые, средние и большие дозы). Структурная перестройка эпителиальных тканей легкого при воздействии малых доз свидетельствует о развивающемся при этом субклеточном уровне адаптации. Действие газовой смеси, содержащей большие и средние дозы сероводорода, вызывает более выраженные субклеточные изменения в эпителиальной выстилке бронхов и альвеол, которая обеспечивает защитную функцию реализацией тканевых механизмов компенсации.

По существующим представлениям [3, 5, 9, 11] глубина патогенетических процессов при воздействии факторов внешней среды для тканей, органов и систем организма различна и определяется глубиной материальных ресурсов тканей и органов. Повреждения наступают тогда, когда все механизмы защиты и адаптации задействованы, а резервы использованы.

Неблагоприятные факторы воздушной среды воздействуют в первую очередь на органы дыхания, где эпителий воздухоносных путей является первым защитным барьером организма. Под влиянием различных химических агентов, поступающих из воздушной среды, происходят существенные нарушения структуры и функции легких [10, 13, 17]. Работы по изучению влияния природного сероводородсодержащего газа на органы дыхания [1, 2, 17, 18] имеют существенное клиническое и профилактическое значение. В имеющихся немногочисленных морфологических исследованиях легких внимание уделено лишь особенностям структурной реорганизации элементов аэрогематического барьера [1, 10, 13]. Отсутствует также комплексный подход к раскрытию сущности структурно-функциональных перестроек как воздухоносных, так и респираторных отделов при воздействии сероводородсодержащих газовых смесей, позволяющий выявить возможности эпителиальных барьеров внутрилегочных бронхов в защите элементов ацинусов и наметить пути коррекции возникающих изменений.

Материал и методика

Исследования были выполнены на 100 белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Использовали затравочную камеру Гельдинскольда. В качестве неблагоприятного фактора внешней среды нами была взята сероводородсодержащая газовая смесь (природный газ Астраханского газового месторождения + воздух), в которой самым агрессивным компонентом является серово-

дород. По его концентрации и определялась мера воздействия на организм. Концентрацию сероводорода и кислорода в смеси определяли газоанализаторами фирм «Paspport», J-813 (Германия). Животные были распределены на 4 группы: первую группу животных подвергали воздействию газовой смеси, содержащей 10 мг/м³ H₂S (малые дозы) ежедневно по 1 часу на протяжении месяца; вторая группа испытывала воздействия газовой смеси, содержащей 100 мг/м³ H₂S (средние дозы) ежедневно по 1 часу на протяжении 1 месяца; третью группу животных подвергали воздействию газовой смеси, содержащей 850-900 мг/м³ H₂S (большие дозы) двукратно по 15 минут с интервалом 24 часа; четвертая – контрольная группа животных. При проведении эксперимента были соблюдены «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных». Материал для исследования забирался под нембуталовым наркозом сразу после последнего воздействия газовой смеси.

Для световой микроскопии легкие фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином, а также ставили ШИК-реакцию.

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5% глутаральдегиде на какодилатном буфере (РН=7,3) с последующей дополнительной фиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия и заливали в эпон-812. Ультратонкие срезы, полученные на ультратоме LKB-5, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, изучали в электронных микроскопах ЭВМ 100АК, JEM-100СХ2.

Гистоавторадиографические исследования проводились с введением внутрибрюшинно ³Н-лейцина (маркера белоксинтетической активности) из расчета 25,9 · 10⁴ Бк/г массы тела животного и тимидина (3,7 · 10⁴ Бк/г) для исследования ДНК-синтетической активности эпителиоцитов. Обработка гистоавтографов произведена в соответствии с методикой, предложенной Жинкиным Л.Н. [6]. В гис-

тоавтографах подсчитывали индекс меченых ядер (ИМЯ) в покровном эпителии внутрилегочных бронхов и количество зерен восстановленного серебра на условную единицу площади надъядерной части цитоплазмы реснитчатых клеток. Обработку данных морфометрического анализа осуществляли методом вариационной статистики с расчетом средней арифметической и доверительного интервала при уровне значимости $p = 95\%$ [15].

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка степени морфологических изменений, развивающихся в легких экспериментальных животных, затруднена в связи с мозаичностью и вариабельностью структурной организации различных участков легких даже у контрольной группы [7]. Воздушность легкого у интактных крыс не везде одинакова, так как вентиляция различных зон легкого происходит асинхронно [8].

При воздействии больших доз ткань легкого с признаками умеренной эмфиземы, отдельные бронхи спазмированы. В эпителиальной выстилке бронхов значительно повышена секреторная активность бокаловидных клеток. Эпителиальный пласт внутрилегочных бронхов местами отрывается от базальной мембраны. В собственной пластинке слизистой оболочки бронхов активизируется лимфоидная ткань. Ультраструктурный анализ показал, что при использовании больших доз наблюдаются повреждения ресничек и митохондриального аппарата мерцательных клеток. В апикальной поверхности реснитчатых клеток уменьшается количество ресничек, появляются микровиллы, способствующие эндоцитозу химических компонентов газовой смеси в цитоплазму. Подобная активность реснитчатых клеток отмечена в ряде других работ [3, 16]. Повреждения и уменьшение количества ресничек, движения которых сопровождаются затратой энергии, по мнению ряда авторов [3, 4], позволяет при химической экспозиции использовать биоэнергетические резервы клетки в другом направлении (на метаболизирование ксенобiotиков). Однако при воздействии больших доз газовой смеси страдает и митохондриальный аппарат, в котором наряду с неизменными органеллами энергетического синтеза встречаются и деструктивно измененные, что приводит к накоплению в клетках большого количества вакуолей, окруженных мембранами бывших митохондрий, образованию аутофагосом и остаточных телец.

В эпителии бронхов увеличивается ДНК-синтетическая активность вставочных клеток (рис. 1).

Бокаловидные клетки переполнены секреторными гранулами. В респираторном отделе наряду с участками, где неизменены элементы аэрогематического барьера, встречаются альвеолы с поврежденными альвеолоцитами первого типа (отек безъядерной части клетки, «парусообразные» выпячивания). Местами наблюдается внутриальвеолярный отек (отдельные альвеолы заполнены электронно плотным содержимым, состоящим из белков плазмы крови, фрагментов клеток). Резкое повышение секреторной активности наблюдается в больших альвеолярных клетках. Они переполнены пластинчатыми осмиофильными тельцами, соотношение площадей, занимаемых ими и митохондриями, сдвинуто в сторону первых. Осмиофильные тельца альвеолоцитов 2 типа сливаются в цепочки. Часто одна из них непосредственно контактирует с просветом альвеолы. Такая реорганизация, по-видимому, способствует быстрому выведению телец на поверхность клеток. Имеет место и выход осмиофильных телец с полным разрушением структуры секреторных альвеолоцитов по типу голокриновой секреции. На возможность этого типа секреции указывает Романова Л.К. (2000). Такая повышенная секреторная активность данных альвеолоцитов, по-видимому, необходима для восстановления поврежденного сурфактанта как первого элемента аэрогематического барьера.

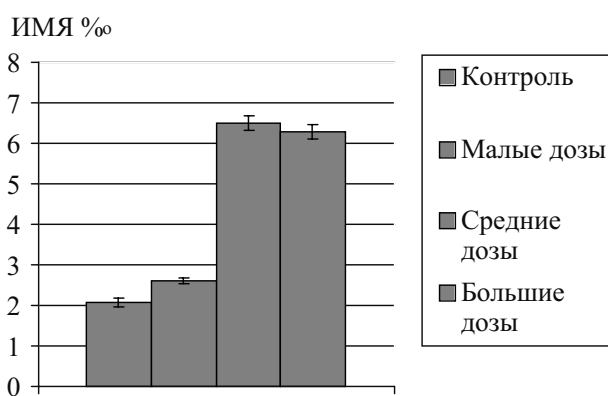


Рисунок 1. ДНК-синтетическая активность клеток эпителиальной выстилки внутрилегочных бронхов

При исследовании респираторного отдела легкого через 3 суток после прекращения воздействия больших доз сероводородсодержащей газовой смеси обращает на себя внимание факт увеличения количества плазмоцитов в интерстиции органа.

При воздействии средних доз клетки эпителиальной выстилки бронхов обедневают органеллами. В апикальной части большинства реснитчатых клеток мало митохондрий, но резко повышается

количество свободных рибосом. Как нам представляется, в этих условиях идет интенсивная дифференцировка реснитчатых клеток за счет вставочных после их износа и гибели при воздействии сероводородсодержащей газовой смеси. У животных этой группы более всего повышается ДНК-синтетическая активность вставочных клеток (рис. 1), о чем свидетельствует также возрастание количества зерен восстановленного серебра на условную единицу площади надъядерной части цитоплазмы реснитчатых клеток (рис. 2).

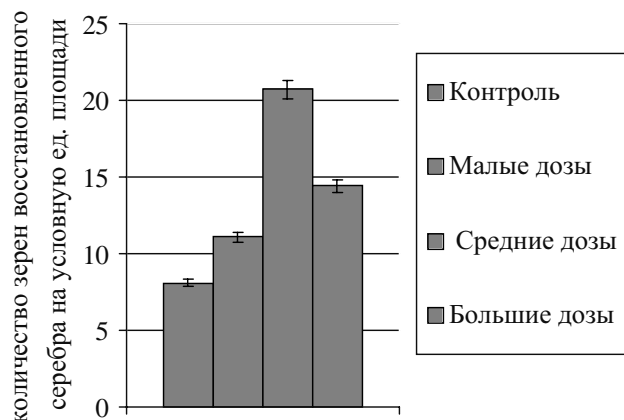


Рисунок 2. Белок-синтетическая активность реснитчатых клеток эпителиальной выстилки внутрилегочных бронхов

Наряду с неизменными элементами аэрогематического барьера встречаются участки, где наблюдается отек и деструкция респираторных эпителиоцитов. В альвеолоцитах второго типа уменьшается количество осмиофильных телец. Митохондрии в них с гомогенизированным матриксом и кристами. В отдельных капиллярах, локализованных в зонах с неизменными элементами аэрогематического барьера, обнаруживаются скопления тромбоцитов, что может рассматриваться как провоцирующий фактор внутрисосудистого гемостаза.

При воздействии малых доз в реснитчатых клетках эпителиальной выстилки бронхов значительно увеличено количество рибосом и полисом на условную единицу площади, появляются «юные» митохондрии [16] с трубчатыми кристами, с гранулированным и гиперосмированным матриксом. Клетки интенсивнее, чем при воздействии боль-

ших и средних доз, включают меченый по тритию лейцин (рис. 2). Индекс меченых ядер в эпителии бронхов по сравнению с контролем увеличивается незначительно (рис. 1).

Особый интерес представляют клетки Клара терминальных бронхиол.

В них расширено перинуклеарное пространство, увеличено количество ядерных пор, увеличены цистерны гладкой ЭПС, на мембранах которой, как известно [4], локализованы ферменты цепочки оксидаз, осуществляющие метаболизирование ксенобиотиков. В клеточных элементах аэрогематического барьера (в альвеолоцитах первого типа и эндотелиоцитах) увеличено количество рибосом и полисом. В микроворсинках клеток много пиноцитозных пузырьков, что, по-видимому, связано с интенсификацией транспорта веществ через аэрогематический барьер. Возможно, именно активизацией трансэпителиального и трансэндотелиального переноса газов объясняется отсутствие отека элементов аэрогематического барьера.

Таким образом, при воздействии газовой смеси, содержащей малые дозы сероводорода, структурная реорганизация эпителиальных тканей внутрилегочных бронхов и альвеол свидетельствует о развивающемся при этом субклеточном уровне адаптации. Действие газовой смеси, содержащей большие и средние дозы сероводорода, вызывает более выраженные субклеточные изменения в эпителиальной выстилке бронхов и альвеол, которая обеспечивает защитную функцию реализацией тканевых механизмов компенсации, что проявляется в более быстром клеточном обновлении. Последнее подтверждается интенсификацией ДНК-синтетической способности в эпителиальных тканях легкого. Выявленные при этом структурные изменения, носящие не тотальный, а мозаичный характер, согласно установленной стадийности в развитии адаптации [11] могут рассматриваться как обратимые. Увеличение количества лимфоидных фолликулов в стенке бронхов и плазматических клеток в интерстиции легкого свидетельствуют также об усилении лимфоэпителиальных взаимоотношений при воздействии используемых дестабилизирующих факторов.

Список использованной литературы:

1. Асфандияров Р.И. и др. Острые отравления сероводородсодержащими газами. - Астрахань, 1995. - 156 с.
2. Боев В.М., Сетко Н.П. Сернистые соединения природного газа и их действие на организм. - М.: Медицина, 2001. - 216с.
3. Бонашевская Т.И. О характере действия газов и паров химических соединений на эпителий воздухоносных путей и респираторных отделов дыхательной системы // Успехи соврем. биол., 1977, т. 84, №6, с. 441-452.
4. Бонашевская Т.И. и Кумпан Н.Б. Защитно-приспособительные реакции воздухоносных и респираторных отделов легких при воздействии загрязнителей атмосферного воздуха. Арх. АГЭ, 1986, №4, с. 41-48.
5. Гомеостаз на различных уровнях организации биосистем. Новосибирск: Наука, 1991. - 206 с.
6. Жинкин Л.Н. Радиоактивные индикаторы в гистологии // Тр. ин-та экспериментальной медицины. - Л., 1959, с.6-30.

7. Зайцева К.К., Симоненкова В.А., Комар Ю.А. Ультраструктурная организация аэрогематического барьера легких лабораторных животных // *Арх. АЭГ* 1985, №9, с. 59-66.
8. Зильбер А.П., Хейфец И.Т. Физиология человека, 1972, т. 2, №2, с. 267.
9. Иванова В.Ф., Маймулов В.Г., Пузырев А.А., Китаева Л.В. и Михеева Е.А. Клеточный уровень адаптации организма к воздействию окружающей среды крупного промышленного города (Санкт-Петербург) // *Морфология*, 2001, №1, с.8-14.
10. Полунин И.Н., Асфандияров Р.И., Тризно Н.Н. Токсический отек легких при остром отравлении сероводородсодержащим газом. Астрахань, 1999. – 219с.
11. Пузырев А.А., Иванова В.Ф., Маймулов В.Г. Адаптация организма к действию экологических факторов на клеточном и субклеточном уровнях. *Морфология*, 1997, №4, с. 23-28.
12. Романова Л.К., Серебряков И.С., Сафронова Л.А. Разновидности типов секреции альвеолоцитами 2 типа легких. Роль микротрубочек в секреторном процессе. *Материалы VI Всероссийской конференции по патологии клетки*. Москва. 2000, с.16-17.
13. Середенко М.М., Розова Е.В., Великанов Э.Б. и Тризно Н.Н. Морфофункциональная характеристика аэрогематического барьера легких у крыс при дыхании газовыми смесями с высоким содержанием сероводорода // *Морфология*, 1992, т. 102, №5, с. 120-129.
14. Сомусев Р.П., Гончаров Н.И. Эпонимы в морфологии. М.: Медицина, 1989, с. 302.
15. Стрелков Р.Ф. Экспресс-метод статистической обработки экспериментальных и клинических данных. М.: Изд. МОЛТМИ, 1986.
16. Чернякова Д.Н., Ливчак М.Я., Беляков А.И., Шафран М.Г. Субмикроскопическое и иммунохимическое прохождение пероксидазы хрена через эпителий слизистой бронха // *Цитология*, 1981, т. 23, №9, с. 1079-1081.
17. Almeida A.F., Guidotti T.L. Differential sensitivity of lung and brain to sulfide exposure a peripheral mechanism for apnea. *Toxicol. Sci.*, 1999, v.2, p. 287-293.
18. Richardson D.B. Respiratory effects of chronic hydrogen sulfide exposure. *Am. J. Ind. Med.*, 1995, Jul. 28(1), p. 99-108.