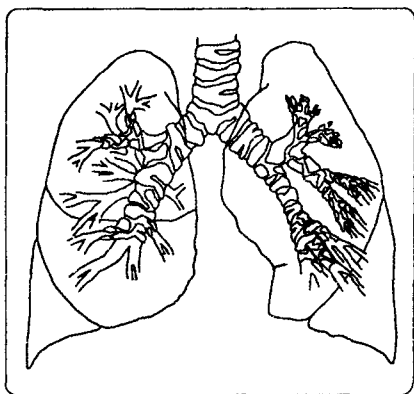


Н.П. Красавина, С.С. Целуйко, В.А. Доровских

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ ПРИ ОБЩЕМ ОХЛАЖДЕНИИ ОРГАНИЗМА НА ФОНЕ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ

Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск



В нашей стране за последние годы наметилась четкая тенденция к увеличению воспалительных заболеваний органов дыхания, что в большей степени связано с воздействием факторов внешней среды [1, 11, 17, 19]. Нозологическая панорама Севера характеризуется не столько наличием большого количества специфических северных болезней, сколько глубоким своеобразием клинического течения и патолого-анатомических проявлений тех заболеваний, которые встречаются и за пределами северных территорий. Своеобразие состояния внутренней среды организма в климатических условиях Крайнего Севера значительно чаще, чем у жителей умеренных широт, приводит к затяжному течению заболеваний органов дыхания и развитию обструктивных процессов. Действие низкой температуры как одного из экстремальных факторов может привести к непосредственному холодовому воздействию, местному раздражению рецепторов и активации симпато-адреналовой системы или же к нарушению реакций перекисного окисления липидов в соединительной ткани, что так или иначе ведет к изменению десмо-эпителиальных взаимоотношений в легких и является одной из первопричин заболеваний органов дыхания [10, 18, 21, 23].

В настоящее время не существует методов лечения, которые бы предотвратили прогрессирование обструкций воздухоносных путей и весь имеющийся спектр методов лечения не приносит большого видимых результатов. В то же время нельзя исключать возможность комбинированного применения уже известных препаратов, изменение методики введения данных лекарств.

Цель настоящего исследования — это морфофункциональная характеристика основных компонентов рыхлой соединительной ткани органов дыхания и оценка уровня компенсаторно-приспособительных реакций при общем охлаждении организма на фоне медикаментозной коррекции.

Материалы и методы

Работа носит экспериментальный характер и выполнена на беспородных белых крысах-самцах (*Rattus norvegicus*) Возраст животных составлял 2-2,5 мес., масса тела — 130-150 г. Объектом исследования были краниальный и каудальный отделы трахеи. Для изучения бронхиального дерева были взяты по два участка каудальных долей обоих легких: зоны, прилежащие к корневой части соответствующих долевых бронхов и включающие сегментарные и субсегментарные бронхи, а также периферические отделы вентральных сегментов, где расположены внутридолевые бронхи и терминальные бронхиолы. Для биохимического исследования забиралась жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ).

Животных первой группы подвергали охлаждению в климатической камере (тип-3001 "ИЛКА", ГДР) при температуре -15°C в течение 3 ч, срок воздействия 15 дней. Животным групп со второй по пятую до помещения в климатическую камеру для охлаждения проводили экспериментальные воздействия:

— вторая группа животных ежедневно подвергалась воздействию импульсным инфракрасным ла-

зером (аппарат "Agnis-L01" с длиной волны 0,85-0,9 мкм, энергией импульса $3,7 \times 10^7$ Дж и частотой

Резюме

Изучены стромально-паренхиматозные взаимоотношения в легких на различных уровнях бронхиального дерева при холодовых воздействиях и возможности коррекции наблюдаемых нарушений, в частности, применение производных малоновой кислоты (ПК-8), тиобарбитуровой кислоты (ТБ-6), недокромила натрия (тайледа), а также лазерного облучения.

N.P. Krasavina, S.S. Tseluyko,
V.A. Dorovskish

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF THE CONNECTING TISSUE OF BODIES OF RESPIRATION AT THE COMMON COOLING THE ORGANISM ON THE BACKGROUND OF MEDICAMENTAL CORRECTION

Amur State Medical Academy,
Blagoveshchensk

Summary

The loose connective tissue of organs of Respiration can be considered as structure of contact link and marker in the system of desmoepithelial relations of lungs at adaptive responses to extreme effects. Problems of stromal parenchymatous relations in lungs at various levels of a bronchial tree at cold effects are very little studied and also possible methods of correction, in particular application of drugs of antioxidant effect (TB-6, PK-8) and anti-inflammatory (tilade) and also laser exposure are unknown. Development and morphological substantiation of application of drugs, in implantation them in clinical practice can bring the considerable contribution to solution of a problem of treatment of chronic obstructive lung diseases.

повторения импульса 240-1400 Гц). Облучению подвергали по 6 точек, расположенных на грудной клетке справа и слева. Воздействие проводили контактным способом, время воздействия на одну точку — 10 с. Суммарная доза подведенной энергии составила 7,8 Дж/см².

— третья группа животных получала комбинированное воздействие: облучение инфракрасным лазером (методика воздействия аналогична второй группе) и ингаляции аэрозоля тайледа (недокромил натрия) в дозе 0,05-0,1 мг/100 г.

— животным четвертой и пятой групп вводили, соответственно, препарат ПК-8 (производное малоновой кислоты — этмабен) и ТБ-6 (производное тиобарбитуровой кислоты) внутривенно по 10 мг/кг на изотоническом растворе хлористого натрия (по 0,5 мл на 100 г веса).

Морфологическое исследование проведено на препаратах, окрашенных гематоксилином Бемераэозином, по методу ван-Гизона и резорцин-фуксинном по Вейгерту. Гликозаминогликаны прокрашивали коллоидным железом в модификации реакции Хейла по Грауману и Клаусу и альциновым синим 8 GX по Сиддману с контрольной обработкой срезов в растворе тестикулярной гиалуронидазы; нейтральные полисахариды — ШИК-реакцией по Мак-Манусу с контрольной обработкой срезов а-амилазой. Обработка материала для трансмиссионной микроскопии осуществлялась по методике J.J. Coalson, V.T. Winteret et al. Исследование и фотографирование ультратонких срезов проводили на электронных микроскопах "Tesla-BS-540", "УЭМВ-100К", "УЭМ-100А". Активность реакции на коллаген, эластин, ШИК-позитивные вещества и гликозаминогликаны оценивалась, после соответствующей окраски, полуколичественно в условных единицах (баллах). Для оценки достоверности двух рядов в данном случае применяли непараметрический критерий Q Розенбаума.

Для биохимических исследований использовали жидкость БАЛ и ткань легкого. Гидроперекиси липидов определяли методом Л.А. Романовой, И.Д. Стальной в модификации Е.А. Бородина с соавт. Содержание витамина Е выявляли по Р.Ж. Киселевич, С.И. Скварко. Диеновые конъюгаты определяли по методу И.Д. Стальной. Результаты исследований введены в базу данных статистического пакета программ автоматизированной системы для научных исследований персонально для каждого животного из всех изученных групп с осуществлением статистической обработки и корреляционно-вариационного анализа.

Результаты и обсуждение

К 15 дню охлаждения в рыхлой соединительной ткани всех отделов воздухоносных путей и межальвеолярных перегородок наблюдаются очаги разрастания коллагеновых и эластических волокон (таблица). Наиболее значительные структурные изменения в соединительной ткани трахеи выявляются на дорзальной поверхности: здесь увеличено число очагов фиброза и зон с повышенной интенсивностью реакции на гликозаминогликаны. Вместе с тем достаточно

часто выявляются зоны, где коллагеновые волокна не имеют типичных признаков строения. По мнению ряда авторов [2, 16], наблюдаемые изменения коллагеновых волокон (набухание, фрагментация, гомогенизация, метакромазия) могут быть обусловлены преимущественно появлением новых взаимоотношений между коллагеном и белково-углеводными комплексами, цементирующими вещество волокон, и отчасти — "пропитыванием" их плазменными белками. В пользу этого свидетельствует усиление интенсивности реакции на ШИК-позитивные вещества и гликозаминогликаны не только по ходу волокнистых структур, но и в стенке кровеносных сосудов и базальном слое эпителия.

В составе рыхлой соединительной ткани нарастало число малодифференцированных фибробластов, активно-синтезирующих коллагенобластов. В стенке бронхов и в межальвеолярных перегородках отмечен рост числа крупных макрофагов (иногда многоядерных), содержащих многочисленные вакуоли и включения. Увеличивались зоны инфильтрации эозинофилами.

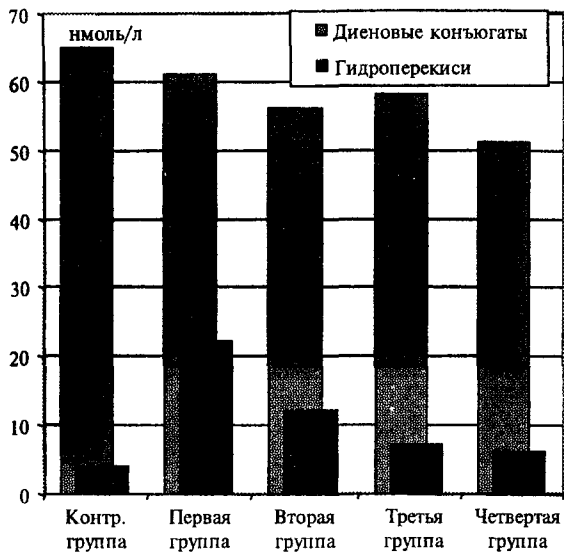
Соединительную ткань можно рассматривать как саморегулирующуюся систему, все реакции которой направлены на инактивацию действующего фактора, репарацию повреждения либо адаптацию к новым условиям. Свойства соединительной ткани во многом определяются соотношением клеточных элементов, химическим составом основного вещества (гликозаминогликаны, гликопротеиды), а также их взаимоотношениями с волокнами различного типа.

Вышеописанные изменения наиболее характерны для стадии адаптивного напряжения с последовательным развитием гуморальных и клеточных фаз воспаления, в ходе которых создаются предпосылки для перехода в стадию стабилизации. В развитии воспалительного процесса в органах дыхательной системы ключевую роль играют стромально-паренхиматозные взаимоотношения, обусловленные структурными изменениями и уровнем процессов метаболизма в рыхлой соединительной ткани, расположенной между кровеносными капиллярами и покровным эпителием на данном микроучастке [10, 22].

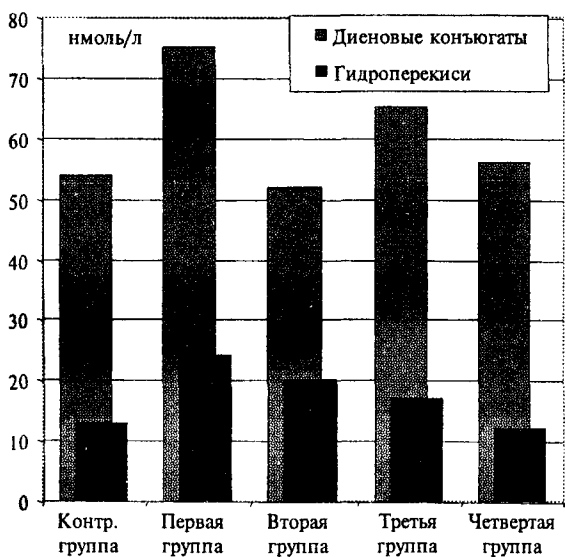
Наши исследования показали, что одна из наиболее эффективных моделей, иллюстрирующих приспособление организма к общему охлаждению, — использование лазерного облучения как ингибитора процессов перекисного окисления липидов. Считается, что облучение лазером повышает прочность мембран клеток к действию продуктов перекисного окисления липидов за счет роста устойчивости ферментативных систем, обеспечивающих окислительное фосфорилирование и накопление энергии [14]. При действии лазера немаловажное значение по снижению уровня воспалительной реакции имеет улучшение дренирования интерстициальной жидкости и стимуляция микроциркуляции, что способствует противоотечному эффекту и улучшению трофики тканей [5, 9, 13].

Действие лазерного облучения на фоне общего охлаждения привело к появлению мозаичной картины в структуре соединительной ткани трахеи и бронхов. Здесь появились очаги с плотно расположен-

В жидкости БАЛ



В ткани легкого



Показатели реакции перекисного окисления липидов интактных и экспериментальных животных в жидкости БАЛ и в ткани легкого

ными волокнами и вместе с тем зоны с деструктивными изменениями (фибриноидного и мукоидного набухания коллагеновых волокон). Число эластических фибрилл уменьшилось, они распределялись неравномерно и были частично фрагментированы. Вышеописанные изменения были наиболее значительны в стенках мембранозных бронхов и альвеол.

В тех участках, где выявлено повышенное количество коллагеновых волокон, обнаруживались скопления эозинофилов, а также крупных и многоядерных макрофагов. На первых этапах при небольшом увеличении проницаемости обычно создаются предпосылки для активации метаболических процессов, что, вполне возможно, является адаптивной реакцией, а длительное и интенсивное усиление проницаемости становится причиной патологических изменений [2, 12]. В пользу данной точки зрения свидетельствует повышение активности щелочной фосфоэстеразы в эндотелиальных клетках и в базальной мембране кровеносных сосудов.

В межальвеолярных перегородках и перибронхиальной соединительной ткани мы наблюдали появление тучных клеток с признаками секреции гранул.

Весь комплекс изменений в соединительной ткани иллюстрирует двойственный эффект воздействия лазерного облучения. С одной стороны, фиброзированная соединительная ткань, вновь сформированная в результате уменьшения длительности фаз воспалительной реакции, подвергается действию различных гидролитических ферментов, вызывающих ее перестройку. С другой стороны, происходящие изменения могут свидетельствовать о пролонгировании ранних стадий воспаления и о замедлении уровня регенерации.

Инфракрасное излучение, по-видимому, изменяет конформацию белковых молекул коллагена и эластина до состояния повышенной чувствительности к протеолизу. Лазерное излучение не меняет физиологической последовательности процессов заживления, но в то же время имеются данные, указывающие, что облучение лазером ведет к образованию более тонкого и нежного рубца [3, 13]. Сопряженность процессов воспаления, регенерации и фиброза реализуется благодаря взаимодействию фибробластов, тучных клеток и макрофагов, активация которых в конечном счете ведет к ускорению пролиферации фибробластических элементов, их дифференцировке и активному фибриллогенезу. Одновременно при участии фибробластов и эозинофилов усиливается резорбция коллагеновых и эластических волокон, что и обуславливает их инволюцию. Не последнюю роль в этом процессе играют тучные клетки.

Комбинированное применение ингаляций тайледа и облучения инфракрасным лазером на фоне общего охлаждения снижало интенсивность коллагенообразования в рыхлой соединительной ткани органов дыхания и, вместе с тем, вызывало уменьшение числа эластических волокон и их фрагментацию (таблица). В данных условиях в краниальном отделе трахеи наблюдалось диффузное увеличение гликозаминогликанов и ШИК-позитивных веществ в базальном слое эпителия. В то же время в зоне бифуркации выявлялись очаговое распределение гликозаминогликанов и неоднородность структуры базальной мембраны эпителия, что, по-видимому, обусловлено деполимеризацией гликозаминогликанов.

Весь комплекс изменений позволяет говорить о достаточно низком уровне деструктивных процессов в соединительной ткани в условиях данного эксперимента, что, возможно, обусловлено снижением реакции перекисного окисления липидов [6, 7]. Данную точку зрения подтверждают результаты, полученные при изучении ткани легкого и жидкости бронхоальвеолярного лаважа, в которых выявлено снижение количества гидроперекисей (рисунок).

Есть все основания считать, что применение ингаляций тайледа, действие которого усиливается под влиянием инфракрасного лазера, обеспечивает своевременную нормализацию метаболических реакций в соединительной ткани, способствуя повышению резистентности органов дыхания в условиях охлаждения. Нельзя исключить и тот факт, что альвео-

**Достоверность изменений интенсивности окраски
на коллагеновые и эластические волокна соединительной
ткани органов дыхания экспериментальных животных**

Объект	Группа животных				
	I*	II**	III**	IV**	V**
Коллагеновые волокна					
Собственная пластинка слизистой					
— краниальный отдел трахеи	↑	0	↓	↓	0
— долевого бронх	↑	↓	↓	↓	0
— мембранозный бронх	↑	0	↓	↓	0
Подслизистая основа					
— краниальный отдел трахеи	↑	0	0	↓	0
— долевого бронх	↑	↓	↓	↓	↓
Межальвеолярная перегородка	↑	↓	0	↓	0
Эластические волокна					
Собственная пластинка слизистой					
— краниальный отдел трахеи	↑	0	↓	0	0
— долевого бронх	0	↓	↓	0	0
— мембранозный бронх	↑	↓	↓	0	0
Подслизистая основа					
— краниальный отдел трахеи	↑	↓	↓	0	0
— долевого бронх	0	0	0	0	0
Межальвеолярная перегородка	0	↓	↓	0	0

Примечания. * — при сравнении данных рядов с рядом интактных животных; ** — при сравнении данных рядов с рядом 15 дней охлаждения; ↑ — достоверное увеличение; ↓ — достоверное уменьшение; 0 — отсутствие достоверных различий.

лярные макрофаги, число которых возрастает в ходе эксперимента, повышают антиоксидантный потенциал, мобилизуя собственные резервы. Данные литературы указывают, что макрофаги обладают достаточно эффективными антиоксидантными системами [20]. Защитная роль макрофагов в процессе холодовой адаптации может дополняться их способностью метаболизировать токсические вещества липоперекисной природы [8].

Таким образом, на фоне воздействия низкой температуры применение инфракрасного лазера позволило создать модель, на базе которой был продемонстрирован эффект усиления противовоспалительного действия тайледа.

В связи с особенностями течения патологии бронхолегочного аппарата в условиях северных регионов, ряд авторов [6, 8, 18] считают целесообразным использование препаратов, обладающих антиоксидантным действием, или веществ, усиливающих их эффект. Анализ литературных данных позволяет предположить, что высокая интенсивность реакции перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантных систем являются наиболее важными в формировании хронических процессов в легких. Существуют данные, показывающие, что в условиях гипоксии в легочной ткани происходит накопление лизофосфатидилхолина и жирных кислот, которые могут быть очень активными повреждающими факторами [24]. С этой точки зрения особый интерес представляют производные малоновой кислоты (ПК-8) и тиобарбитуровой кислоты (ТБ-6) как препараты, препятствующие накоплению про-

дуктов перекисного окисления липидов, что и обуславливает необходимость применение их для оценки влияния на структуры соединительной ткани в условиях действия низких температур [4, 17].

Применение препарата ПК-8 на фоне охлаждения приводило к уменьшению интенсивности реакции на коллагеновые волокна соединительной ткани, при этом тенденции к росту количества эластических элементов и к увеличению их толщины в перибронхиальной зоне чаще всего сохранялись (таблица). Эластический каркас стенки альвеол сохранялся, в связи с чем большинство из них имели обычный диаметр. Реакция на гликозаминогликаны и ШИК-позитивные вещества в соединительной ткани в этой группе животных была однородной, хотя некоторое увеличение последних выявлено в слизистой оболочке трахеи.

Действие препарата ТБ-6 на фоне охлаждения приводило к умеренному очаговому увеличению числа коллагеновых и эластических волокон в соединительной ткани бронхиального дерева и респираторного отдела. Интенсивность реакции на ШИК-позитивные вещества в подэпителиальной зоне трахеи и бронхов у животных этой группы значительно увеличивалась. В слизистой оболочке, перибронхиальной соединительной ткани и межальвеолярных перегородках выявлялись обширные скопления лимфоцитов и эозинофилов. Число альвеолярных макрофагов снижалось.

Сравнительный анализ эффективности препаратов антиоксидантного действия на соединительную ткань органов дыхания в условиях охлаждения свидетельствует, что наиболее выраженным положительным действием обладал ПК-8 (производное малоновой кислоты). Так, ПК-8 вызывал замедление интенсивности реакции перекисного окисления липидов, проявившееся снижением количества диеновых конъюгатов и гидроперекисей в ткани легкого и жидкости бронхоальвеолярного лаважа (рисунок). Вероятно, это способствует уменьшению уровня деструктивных процессов в соединительной ткани органов дыхательной системы.

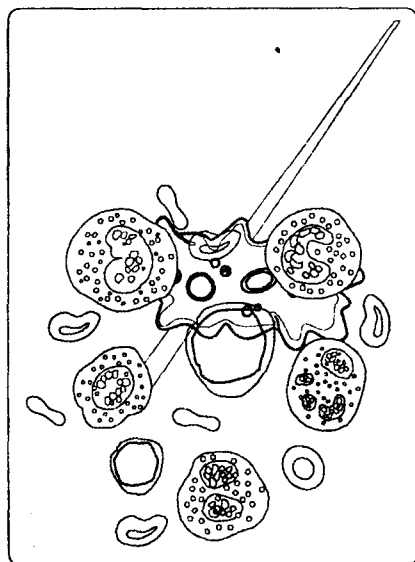
Выводы

Проведенные исследования показали, что комплексный подход позволяет оценить степень морфологической устойчивости и этапность изменений структур соединительной ткани в различных отделах дыхательной системы при действии на организм низкой температуры на фоне медикаментозной терапии. Своевременная и правильная коррекция реакции свободнорадикального окисления липидов может способствовать понижению действия цитотоксических факторов в условиях общего охлаждения, в связи с чем применение данных средств в клинической практике позволит проводить более эффективную терапию в целях предупреждения хронизации обструктивных заболеваний легких.

Л и т е р а т у р а

1. Бобков А.Г. // Руководство по пульмонологии / Под ред. Н.В. Путова, Г.В. Федосеева. Л.: Медицина, 1978. С.24-48.

2. Серов В.В., Пауков В.С. (ред.) Воспаление: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1995. 640 с.
3. Гаткин Е.Я., Владимирцева А.Л., Баландина Е.К., Эттингер А.П. // Бюлл. exper. биол. и мед. 1990. Т.Х. С.533-536.
4. Доровских В.А. Фармакологическая коррекция холодового воздействия в эксперименте: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1987. 40 с.
5. Козлов В.И. // Лазерная медицина. 1997. Т.1, Вып.1. С.6-12.
6. Колесникова Л. И., Семенюк А. В., Куликов В. Ю., Целуйко С. С. // Мат-лы I Всесоюзн. биофизич. съезда. М., 1982. С.82-83.
7. Котенко Т.В., Зыгина Н.Н., Двораковская И.В. // Клин. мед. 1983. №11. С.75-79.
8. Куликов В.Ю., Семенюк А.В., Колесникова Л.И. Перекисное окисление липидов и холодовой фактор. Новосибирск: Наука, 1988. 192 с.
9. Плетнев С.Д. (ред.) Лазеры в клинической медицине. М.: Медицина, 1996. 432 с.
10. Есипов И.К. (ред.) Легкое в норме. Новосибирск: Наука, 1975. 286 с.
11. Милованов А.П. // Физиология человека. 1977. Т.3, №6. С.1023-1035.
12. Мотавкин П.А., Гельцер Б.И. Клиническая и экспериментальная патофизиология легких. М.: Наука, 1998. 366 с.
13. Непомнящих Г. И., Егунова С. М., Непомнящих Л. М., Полосухин В. В. // Бюлл. СО АМН СССР. 1987. №4. С.103-110.
14. Осин А.Я., Ицкович А.И., Гельцер Б.И. Лазерная терапия в пульмонологии. Владивосток: Дальнаука, 1999. 222 с.
15. Саркисов Д.С., Пальцын А.А., Втюрин Б.В. // Вестн. Акад. мед. наук СССР. 1979. №11. С.64-70.
16. Саркисов Д.С. (ред.) Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. М.: Медицина, 1987. 448 с.
17. Целуйко С.С. Морфофункциональная характеристика органов дыхания человека в экстремальных экологических условиях Северо-Востока РСФСР: Дис. ... д-ра мед. наук. Благовещенск, 1992. 391 с.
18. Целуйко С.С., Доровских В.А., Красавина Н.П. Морфофункциональная характеристика соединительной ткани органов дыхания при общем охлаждении организма. Благовещенск, 2000. 254 с.
19. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. М.: ЗАО БИНОМ; СПб.: Невский диалект, 1998. 512 с.
20. Denis M. // Inflammation. 1995. Vol.19, No.2. P.207-219.
21. Iravani J. // Pneumonologie. 1971. Bd.144, Nr.2. S.93-112.
22. McDonald D.M. // Eur. Respir. J. Suppl. 1990. Vol.12. P.572-585.
23. Patrick G., Stirlung G. // J. Appl. Physiol. 1977. Vol.42, No.3. P.451-455.
24. Polis B.D., Polis E., Schwarz H., Dreisbach L. // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1994. Vol.145. No.1. P.70-73.



УДК 612.16 + 616.963.43

В.В. Шаройко, Е.С. Банщикова., Б.М. Кершенголыц

**ИССЛЕДОВАНИЕ
ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ
И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ
ЭРИТРОЦИТОВ БОЛЬНЫХ
НАСЛЕДСТВЕННОЙ ЭНЗИМОПЕНИЧЕСКОЙ
МЕТГЕМОГЛОБИНЕМИЕЙ.
НОВЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ
И БИОХИМИЧЕСКИ АДЕКВАТНОЕ ВЕДЕНИЕ
ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ**

Якутский государственный университет, г. Якутск

Наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия (НЭМ) — редкое гематологическое заболевание, которое встречается во всем мире. Врожденный цианоз при отсутствии выраженных поражений сердца и легких, но связанный с повышенным содержанием метгемоглобина (MetHb(Fe³⁺) или MetHb) в циркулирующих эритроци-

Резюме

Изучена активность перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты эритроцитов больных наследственной энзимопени-