

Г.Г. Кругликов, Б.Т. Величковский

Ультраструктурные особенности аэрогематического барьера при развитии пневмокониозов

Российский государственный медицинский университет, Москва

G.G. Kruglikov, B.T. Velichkovsky

Ultra-fine features of aerohaematic barrier in pneumoconiosis

Summary

Combined implication of optical, transmissive and scanning electron microscopy allowed detection of early response to dust exposure: slowing of blood flow and dilation of pulmonary capillaries, oedema and initial stage of fibrillogenesis in aerohaematic barrier.

Резюме

Сочетанное применение методов оптической, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии позволяет выявить раннюю реакцию на пылевое воздействие – расширение просвета и замедление кровотока в легочных капиллярах, развитие отека и начальных этапов фибриллогенеза в области аэрогематического барьера.

Исследование наиболее ранних патологических изменений, возникающих в легких под воздействием пылевых частиц, обусловлено необходимостью изучения механизма развития не только профессиональных заболеваний – пневмокониоза, хронического пылевого бронхита, профессиональных новообразований. Требуется выяснить особенности влияния на организм субмикроскопических пылинок, содержащихся в атмосферном воздухе. В последнее время возникла новая потребность – определить возможное повреждающее воздействие нерастворимых наночастиц, содержащихся в воздухе рабочей зоны. Однако для изучения патологических процессов пылевой этиологии, приводящих к нарушению функции газообмена в легких, наиболее адекватной моделью остаются пневмокониозы, позволяя проследить постепенное развитие всех этапов патологических изменений в легочной ткани, начиная с самых ранних.

Задача данных экспериментальных исследований заключалась в характеристике начальных этапов фибрилогенеза в области аэрогематического барьера легких.

Материалы и методы

Моделирование пневмокониоза осуществлялось у половозрелых белых крыс весом 180–220 г, которым однократно интратрахеально вводилась стандартная суспензия (50 мг/мл) мелкодисперсной пыли каменного угля, кварца, цеолитов и лунного грунта (10 мг).

Для гистологических препаратов отбирались стандартные участки легочной ткани из левой нижней доли, использовались также полутонкие срезы и отпечатки легких. Срезы окрашивали азур-2-эозином и пикрофуксином по методу Ван-Гизона. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим с фуксином. Препараты – отпечатки легких окрашивали

по Романовскому–Гимзе. Материал изучали методами световой, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии.

Для трансмиссионной электронной микроскопии кусочки легких фиксировали в глутаровом альдегиде и OsO₄, обезвоживали, заливали в эпон-аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца, просматривали с помощью микроскопов JEM-100 (JEOL, Япония), Hitachi HU-12A (Hitachi, Япония).

Образцы легких для сканирующей электронной микроскопии фиксировали последовательно в глутаровом альдегиде и OsO₄. На дегидротированные образцы напыляли золото и просматривали их в микроскопе QuickScan-100.

В препаратах-отпечатках определяли локализацию и активность кислой фосфатазы в макрофагах по методу Гомори [1].

Результаты и обсуждение

Введение пылевых частиц в легкие вызывает защитную реакцию прежде всего со стороны кровеносных капилляров аэрогематического барьера. Просвет сосудов расширяется, в них замедляется кровоток, развивается стаз, сладж-феномен. В стенках многих капилляров увеличивается просвет межклеточных контактов, появляются поры, что способствует выходу плазмы из сосудов, которые переполнены не только эритроцитами, но и большим количеством лейкоцитов. Иногда непосредственно в кровотоке, в просвете капилляров, наблюдается митоз мононуклеаров. Нейтрофилы и другие зернистые лейкоциты вначале практически не принимают участия в фагоцитозе пылевых минеральных частиц. Выселяясь из сосудов в ткани, они быстро распадаются, обогащая очаги воспаления в легких биологически активными продуктами. Позднее нейтрофилы начинают

участвовать в фагоцитозе пылевых частиц — тем активнее, чем выше цитотоксичность и фиброгенность последних.

Процесс экссудации плазмы сквозь эндотелиальную выстилку осуществляется пиноцитозными пузырьками, которые через базальную мембрану поступают в альвеолоциты 1-го типа. Сначала плазма в пиноцитозных пузырьках бедна белками и имеет слабую электронную плотность. В дальнейшем пиноцитозные пузырьки переносят более плотный материал, более обогащенный белками [2, 3]. Пиноцитозные пузырьки, преодолев альвеолоциты, попадают на поверхность альвеол и встраиваются в сурфактантный комплекс.

В результате экссудации плазмы в составе сурфактантного комплекса выявляются плотные массы фибрина, которые структурируются в фибриновые волокна с характерной для них поперечной исчерченностью (рис. 1а, в, г). В альвеолоцитах 2-го типа наблюдаются интенсивная секреция пластинчатых телец сурфактанта и накопление их в альвеолярных полостях (рис. 1б). Однако отекая жидкость постепенно замещает сурфактант в альвеолярной выстилке [4, 5]. Отек и структурные изменения аэрогематического барьера приводят к нарушению газообменной функции легких и способствуют раз-

витию гипоксии. В альвеолоцитах и клетках соединительной ткани легких наблюдается рост числа крупных отежных митохондрий с деструктивными кристами (рис. 1б, в).

Одновременно с экссудацией плазмы происходит переход клеток белой крови в альвеолярные полости и ткань легких. Альвеолярные и интерстициальные макрофаги поглощают пылевые частицы, эритроциты, клеточный детрит, фибрин и компоненты сурфактанта (рис. 2). Постепенно активируются не только макрофаги и гранулоциты, но и плазматические клетки и фибробласты. Безвредных видов промышленной пыли нет, поэтому структурно-функциональное состояние макрофагов всегда в той или иной мере изменено в зависимости от степени цитотоксичности захваченных пылинок.

Лизосомальные ферменты макрофагов не в состоянии разрушить минеральные пылевые включения, поэтому раньше или позже они погибают и распадаются. Если макрофаги поглощают частицы слабоцитотоксичной угольной пыли, они способны внутриклеточно элиминировать значительную ее часть из легких вместе с бронхиальным секретом. В этом случае количество частиц пыли в легочной ткани часто не достигает критической величины, и антракоз развивается преимущественно в виде хронического пылевого бронхита [6, 7]. Макрофаги, поглотившие угольную пыль, увеличиваются в размерах, в них происходит гипертрофия органелл, накапливаются липиды. Если поглощены 2–3 частицы угля размером 1–5 мкм, структурная организация клетки сохраняется. Иногда в таком макрофаге наблюдается даже митотическое деление, что указывает на его сохранившуюся жизнеспособность. Такие клетки хорошо выявляются при исследовании отпечатков легких, при получении которых они фиксируются на предметном стекле в 1 слой. При наличии в легочной ткани крупных частиц угля (8–10 мкм) макрофаги объединяются вокруг них, и формируются гигантские многоядерные клетки инородных тел.

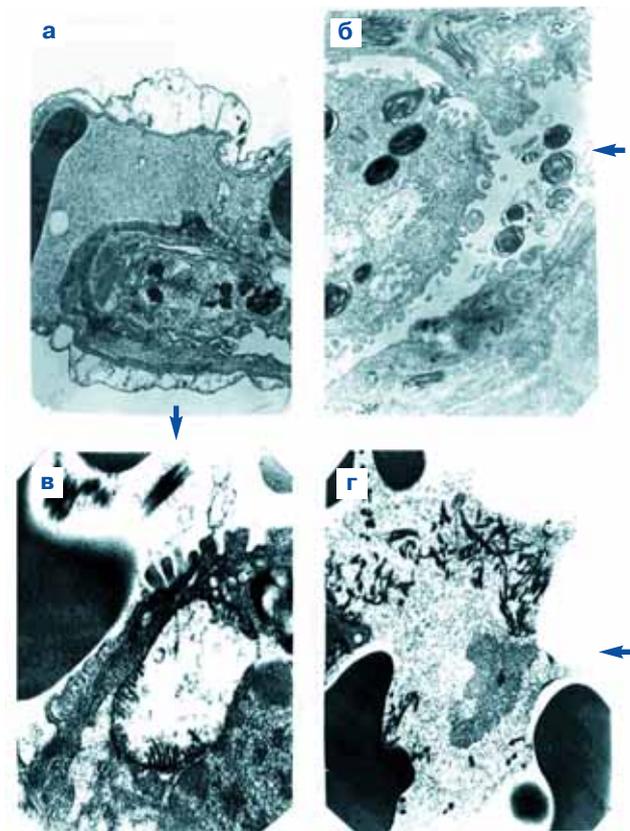


Рис. 1. Аэрогематический барьер в начальный период развития пневмокониоза: а — стужение плазмы, утолщение базальной мембраны, отек альвеолоцита 1-го типа, $\times 7\ 000$; б — экзоцитоз пластинчатых телец на поверхность альвеолы, единичные коллагеновые волокна в аэрогематическом барьере, $\times 10\ 000$; в — фрагмент альвеолоцита 2-го типа, в митохондриях — отек и деструкция крист, на поверхности альвеолы — единичные фибриновые волокна и эритроцит, $\times 15\ 000$; г — в полости альвеолы — фибриновые волокна, мембранные структуры сурфактанта и эритроциты, $\times 9\ 000$

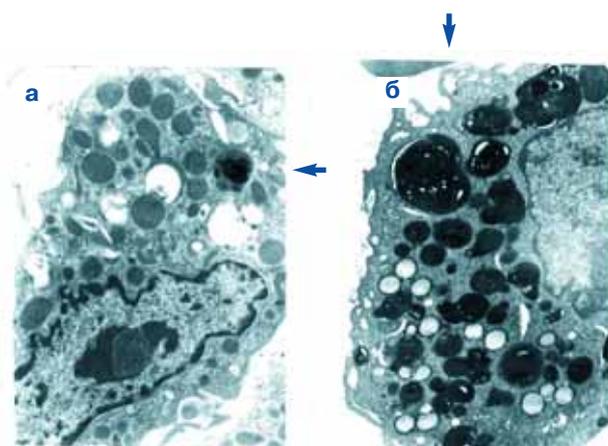


Рис. 2. Альвеолярный макрофаг с угольными пылевыми частицами — кониофаг: а — альвеолярный макрофаг с частицами угля в фаголизосоме, $\times 10\ 000$; б — альвеолярный макрофаг, в цитоплазме которого — крупные фаголизосомы с пылевыми частицами лунного грунта, множество лизосом, митохондрий и липидных включений, $\times 12\ 000$

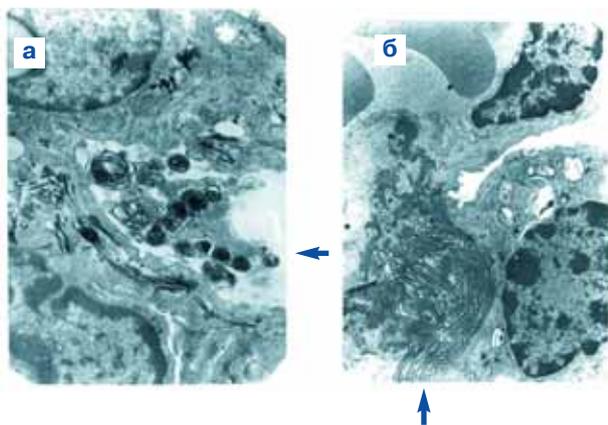


Рис. 3. Аэрогематический барьер с начальными явлениями фиброза: а — сурфактантный комплекс на поверхности альвеолы, ряды коллагеновых волокон в барьере, $\times 10\ 000$; б — пласты коллагеновых и эластических волокон в барьере, $\times 9\ 000$

Фагоцитоз цитотоксичных частиц кварца вызывает в макрофагах быструю деструкцию органелл — вначале митохондрий, затем фаголизосом и лизосом. Одновременно вокруг поглощенных пылинок происходит коагуляция белков в виде уплотненных участков гиалоплазмы. В кониофагах накапливаются многочисленные липидные включения. В ходе гистологического исследования при выявлении кислой фосфатазы в большинстве кониофагов наблюдается диффузное распределение фермента по цитоплазме, характерное для разрушенных лизосом и развития аутолиза клетки. В неповрежденных лизосомах фермент выявляется в корпускулярной форме [8]. Вместе с тем у лабораторных животных не развивается альвеолярный протеиноз [9]. По-видимому, альвеолярный протеиноз не является обязательной стадией возникновения пневмокониоза или представляет собой кратковременный, трудно уловимый этап развития патологических изменений, не влекущий за собой значимых последствий. Быстрое разрушение кониофага под влиянием кварцевой пыли обуславливает его выведение преимущественно внеклеточно по лимфатическим путям и депонирование в лимфатических узлах корней легких и средостения. В области аэрогематического барьера выявляются плазматические клетки, которые интенсивно секретируют иммуноглобулины, осуществляющие местную аутоиммунную защиту от измененных, окисленных белков.

Под воздействием синтезируемых активированными макрофагами цитокинов, а также продуктов

распада кониофагов происходит стимуляция фибробластов и увеличение синтеза эластических белков и коллагеновых фибрилл. Формирование коллагеновых волокон в аэрогематическом барьере между эндотелием капилляров и альвеолоцитами 1-го типа приводит к утолщению и уплотнению тканевого матрикса, затруднению диффузии молекул кислорода и углекислого газа, ухудшению газообмена. Вследствии в этих участках нарастает отложение эластических и коллагеновых волокон, что приводит к необратимому увеличению гипоксии (рис. 3). В легочной ткани и в альвеолах развивается узелковая форма силикоза.

Гистологические изменения аэрогематического барьера, наблюдаемые при запылении животных цеолитом и лунным грунтом, по степени выраженности занимают промежуточное положение между углем и кварцем и не вызывают каких-либо нетипичных проявлений патологического процесса.

Литература

1. Пирс Э. Гистохимия практическая и теоретическая. Пер. с англ. М.; 1962.
2. Арутюнов В.Д., Кругликов Г.Г., Бацура Ю.Д. Цитофармакологический эффект применения поливинилпиридин-N-оксида при экспериментальном силикозе // Бюл. exper. биол. 1977; 3: 371–374.
3. Кругликов Г.Г., Величковский Б.Т. Особенности образования сурфактанта при введении в легкие экзогенных пылевых частиц // Бюл. exper. биол. 1990. 2: 128–130.
4. Ерохин В.В., Романова Л.К. Сурфактантная система легких. В кн.: Ерохин В.В., Романова Л.К. (ред.). Клеточная биология легких в норме и при патологии: Руководство. М.: Медицина; 2000.
5. Gütrke J. Surfactant and lung mechanics. In: Robertson V. et al., eds. Pulmonary surfactant. Amsterdam: Elsevier. 1993. 165–192.
6. Величковский Б.Т. Экологическая пульмонология. Екатеринбург; 2003.
7. Кругликов Г.Г., Величковский Б.Т., Чучалин А.Г. Морфологическая характеристика хронического обструктивного бронхита. Пульмонология 2003; 3: 16–19.
8. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Общая и частная патология легких. В кн.: Чучалин А.Г. (ред.). Респираторная медицина. Т. 1. М.; 2007. 131–155.
9. Лоцилов Ю.А. Клиническая морфология пневмокониозов. В кн.: Кацнельсон Б.А., Алексеева О.Г. и др. (ред.). Пневмокониозы: патогенез и биологическая профилактика. Екатеринбург; 1995. 197–209.

Поступила 18.09.08
© Кругликов Г.Г., Величковский Б.Т., 2008
УДК 616.24-003.661-092