

*Ю.А.Кириллов, В.Ф.Дубровская, А.А.Сейлиев, А.Э.Шульга, Л.В.Лошакова,
Л.Н.Данилов, В.А.Волчков, О.А.Розенберг*

ВЛИЯНИЕ СУРФАКТАНТА ЛЕГКОГО КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ТЕЧЕНИЕ БЛЕОМИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ПАТОЛОГИИ ЛЕГКИХ КРЫС

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Центральный научно-исследовательский
рентгенорадиологический институт МЗ РФ

INFLUENCE OF BOVINE SURFACTANT ON DEVELOPMENT OF BLEOMYCIN-INDUCED RAT LUNG DISTURBANCES

Ju.A.Kirillov, V.F.Dubrovskaja, A.A.Seiliev, A.E.Shulda, L.V.Loshakova, L.N.Danilov, V.A.Volchkov, O.A.Rosenberg

S u m m a r y

Dynamic histological and electron microscopic rat lung investigation using morphometria was carried out after intratracheal bleomycin administration and consequent three-time lung surfactant inhalation. There were found out the significant decrease of both intensity and extension of intracellular oedema, alveolitis and focal bronchopneumonia. One of the possible mechanisms of revealed effect could be the recorded decrease of alveolocyte-II alteration

Р е з ю м е

После интратрахеального введения блеомицина и последующего ингаляционного трехкратного введения препарата легочного сурфактанта проведено динамическое гистологическое и электронно-микроскопическое исследование легкого крыс с использованием морфометрии. Обнаружено достоверное уменьшение выраженности и распространенности внутриклеточного отека, альвеолита и очаговой бронхопневмонии. Одним из механизмов обнаруженного эффекта может быть зарегистрированное уменьшение степени альтерации альвеолоцитов II типа под влиянием использованного препарата.

Повышающийся удельный вес фиброзирующих альвеолитов (ФА) в общей структуре заболеваемости легких, высокая инвалидизация больных и отсутствие эффективных средств лечения постоянно привлекают внимание исследователей к этой проблеме. ФА в ранней стадии развития характеризуется интерстициальным отеком, лимфоидной инфильтрацией, активацией макрофагов и последующим развитием пневмосклероза [3]. Одним из малоизученных аспектов развития ФА является состояние сурфактантной системы легких.

Блеомициновый альвеолит (БА), один из частных случаев ФА у человека, был описан как осложнение при системном введении этого противоопухолевого антибиотика больным злокачественными новообразованиями и стал удобной моделью изучения ФА в эксперименте.

БА характеризуется также гиперплазией альвеолоцитов II типа (А-II) и последующим их истощением, нарушениями в структуре оптически-плотных телец (ОПТ) и изменениями содержания и состава фосфолипидов легочного сурфактанта [1,3].

Целью настоящей работы явилось выяснение возможности модификации течения БА интратрахеальным введением препарата сурфактанта из легкого крупного рогатого скота.

Эта цель была сформулирована на основании двух предпосылок. Во-первых, на представлениях о ведущей роли реакции иммунокомпетентных клеток и эндотелия, а также баланса цитокинов в развитии БА [4,6]. И, во-вторых, на сведениях о том, что сурфактант, наряду с основной функцией предотвращения спадения альвеол во время выдоха, обладает иммунорегуляторными свойствами [5,7].

Опыты проведены на нелинейных белых крысах-самцах массой 180—200 г. Блеомицин (БМ) вводили однократно интратрахеально в дозе 10 мг/кг. Сразу после введения БМ и в течение последующих 3 суток одной группе крыс проводили 3-кратные ингаляции сурфактанта легкого крупного рогатого скота (СТ-ВЛ) в дозе 10 мг/кг (суммарная доза — 30 мг/кг). СТ-ВЛ экстрагировали физиологическим раствором из свежего мелконарезанного легкого с последующим переосаждением с помощью дифференциального центрифугирования и экстракцией осадка смесями органических растворителей, как описано нами ранее [2]. Крысам контрольной группы вводили изотонический физиологический раствор NaCl (ФР). Животных обследовали через 7, 14 или 30 суток после введения БМ.

Гистологическое исследование с применением морфометрических методов проводили на тотальных па-

Нарушения в структуре легких у крыс на 7-е и 30-е сутки эксперимента

Характер изменений	Срок (сут.)	Объем ткани (%)		p
		БМ	БМ+СТ-BL	
Сохранение структуры	7	43,4±1,37	55,2±1,61	<0,001
	30	74,2±1,22	79,0±1,45	<0,05
Внутриальвеолярный отек Альвеолит	7	5,4±0,73	1,5±0,42	<0,001
	7	51,2±1,76	43,3±1,94	<0,01
Эмфизема	30	5,0±0,60	3,5±0,63	>0,05
	30	1,8±0,36	1,7±0,46	>0,05
Очаговая бронхопневмония	30	2,8±0,46	0,4±0,22	<0,001
Интерстициальный фиброз	30	9,0±0,80	7,2±0,93	>0,05
Очаги фиброателектаза	30	7,2±0,71	8,2±0,97	>0,05

рафиновых срезах легкого, окрашенных гематоксилином и эозином и по ВанГизону.

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5% глутаральдегиде с последующей обработкой для получения ультратонких срезов, которые после контрастирования изучали в микроскопе JEM 100B. Стереометрическое исследование проводили на проекциях электронограмм при общем увеличении 30 000. Площадь анализируемых образцов для каждого из вариантов опыта составила от 4370 до 4930 мкм² на 1170 электронограммах.

Гистологическое и электронномикроскопическое исследования материала показали, что ингаляция ФР не модифицирует степени тяжести и скорость развития БМ-индуцированной патологии легких. Поэтому данные количественного анализа легочной ткани животных без введения СТ-BL и ингалированных ФР объединены в одну группу.

Результаты морфологического исследования легких

Через 7 суток после введения БМ значительные зоны легочной ткани характеризовались слабовыраженными явлениями интерстициального отека и сохраняли свою воздушность (табл.1)

Ингаляции СТ-BL ослабляли распространенность повреждения, что приводило к достоверному ($p<0,001$) увеличению объема функционирующей ткани легкого по сравнению с показателями нелеченых животных.

В диффузно расположенных мелких участках легкого разрыхление структуры и отек межальвеолярных перегородок сочетались с внутриальвеолярной экссудацией жидкости. Данные изменения чаще регистрировались и отличались большей распространенностью в легких крыс, не получавших препарат ($p<0,001$). Нарушения в структуре органа через 7 суток после введения БМ были в основном обусловлены альвеолитом. Введение СТ-BL ослабляло тяжесть патологического процесса и уменьшало долю измененной ткани легкого (рис.1, а,б) по сравнению с вариантом опыта без ингаляции препарата ($p<0,01$).

Через 14 суток после введения БМ у подопытных крыс всех групп признаки текущего альвеолита носили очаговый характер и наблюдались во всех долях правого и левого легкого. В отдельных участках органа отек и клеточная инфильтрация приводили к дистелектазу либо ателектазу ткани с образованием и накоплением в этих зонах коллагеновых волокон. Для развития интерстициального пневмосклероза были характерны очаговые разрастания соединительной ткани с одинаковой частотой их регистрации у животных всех групп.

Введение СТ-BL не изменяло характер и темпы развития БМ-индуцированной патологии в легком крыс, тогда как выраженность и распространенность отдельных ее признаков были ослаблены. Использование морфометрического метода выявило почти 2-кратное уменьшение доли легочной ткани с явлениями интерстициального и внутриклеточного отека у леченых животных по сравнению с крысами, не получавшими ингаляции СТ-BL. Так, в группе нелеченых крыс 38% объема ткани легкого имело морфологические признаки данной патологии, тогда как введение СТ-BL уменьшало распространенность этого вида нарушений до 17%.

Через 30 суток после введения БМ у подопытных крыс всех групп наблюдался процесс восстановления структуры легкого (см. табл.1), причем объем ткани, не имевшей морфологических признаков повреждения, у леченых животных был наибольшим и достигал 78% ($p<0,05$).

Небольшие (занимающие несколько долек) участки бронхопневмонии наиболее часто диагностировались в легком крыс с БМ-индуцированной патологией, тогда как у леченых животных воспалительные изменения выявлялись крайне редко ($p<0,001$). Введение препарата не модифицировало частоту развития и тяжесть БМ-индуцированного очагового пневмосклероза, а также появление микрозон иррегулярной эмфиземы ($p>0,05$).

Результаты электронно-микроскопического исследования легких

После введения БМ электронно-микроскопическая картина нарушений в структуре аэрогематического

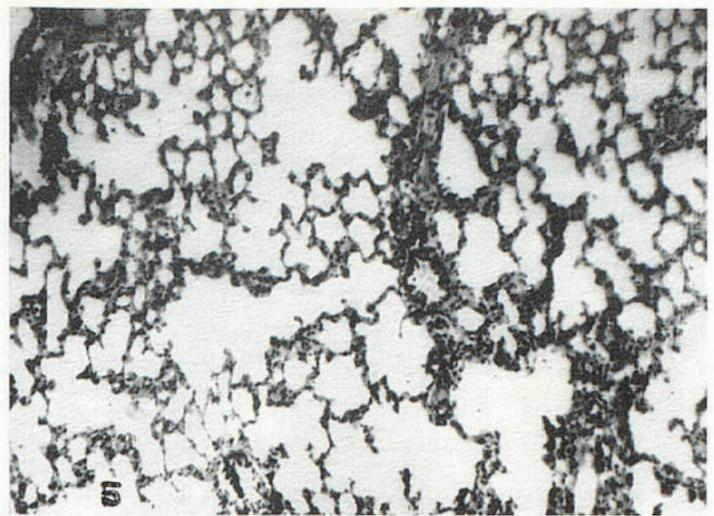
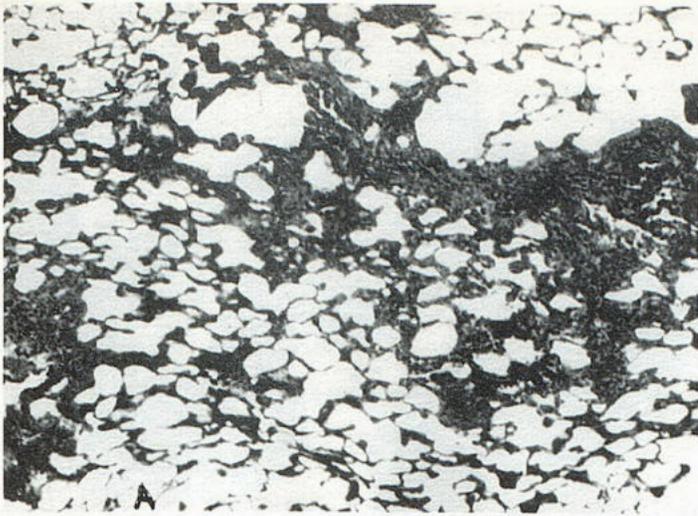


Рис. 1. Участок ткани легкого через 7 суток после введения БМ (А) и ингаляций СТ-ВЛ (Б).

Ослабление распространенности патологического процесса у леченых крыс. Гематоксилин-эозин. $\times 100$.

барьера на протяжении опыта была представлена динамикой изменений, характерных для альвеолита с переходом от преимущественно отечной к продуктивной фазе его развития.

Альтерации в тонкой организации интерстиция, а также эндотелиоцитов капилляров и эпителиальных клеток были мозаичны в пределах альвеолярной стенки. Если через 7 и 14 суток нередко наблюдалось внутриальвеолярное расположение поврежденных альвеолоцитов, клеточного детрита и функционально активированных макрофагов (рис. 2), то к 30-м суткам на фоне преимущественной нормализации ультраструктуры клеточных элементов аэрогематического барьера увеличивалась численность фибробластов с очагами накопления коллагеновых волокон.

Характер нарушений в строении клеточных и неклеточных компонентов межальвеолярной перегородки был аналогичным в подопытных группах, тогда как степень их выраженности и распространенности в ткани легкого у леченых животных была существенно меньшей (рис. 3, а, б).

Учитывая основную направленность действия использованного препарата, объектом количественного анализа явилась популяция альвеолоцитов II типа (А-II), ответственных за синтез сурфактанта в ткани легкого. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Согласно представленным данным через 7 суток после введения БМ у леченых животных было вдвое уменьшено количество А-II с признаками необратимых повреждений по сравнению с показателями крыс, не получавших СТ-ВЛ. Численность осмиофильных пластинчатых телец в функционирующих эпителиальных клетках после ингаляций СТ-ВЛ снижалась в меньшей степени ($p < 0,01$) при лучшей сохранности структуры их пластинчатого комплекса. БМ-индуцированное увеличение площади (соответственно объема) А-II зарегистрировано в легких всех групп подопытных животных. Наиболее значительно данный показатель возрастал у леченых крыс. Исследование ультраструктуры А-II показало, что наряду с нарушениями в тонкой

организации этих клеток наблюдалась активизация внутриклеточных процессов, проявлявшаяся в увеличении численности мультивезикулярных телец, гипертрофии элементов комплекса Гольджи, умеренном расширении канальцев эндоплазматической сети, тогда как в А-II нелеченых животных преобладали явления повреждения.

К 30-м суткам происходили сдвиги в сторону нормализации популяционных и субклеточных характеристик А-II. Количество поврежденных клеток в легком подопытных крыс продолжало превышать соответствующие значения биологического контроля. Однако у леченых животных доля гибнущих А-II была меньшей по сравнению с крысами, не получавшими препарат.

Численность ОПТ в А-II после ингаляций СТ-ВЛ восстанавливалась и даже превышала контрольный показатель, тогда как у нелеченых животных количество этих элементов продолжало оставаться достоверно

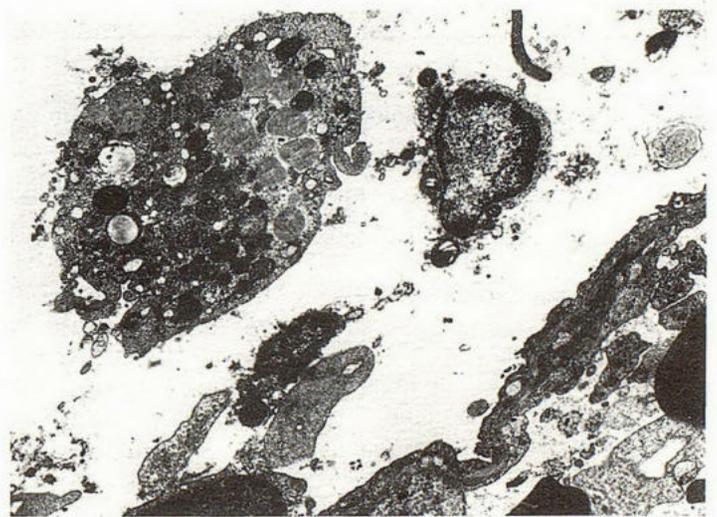


Рис. 2. Макрофаг и фрагменты разрушенных эпителиальных клеток в полости альвеол (ПА).

7 суток после введения БМ. $\times 10000$.

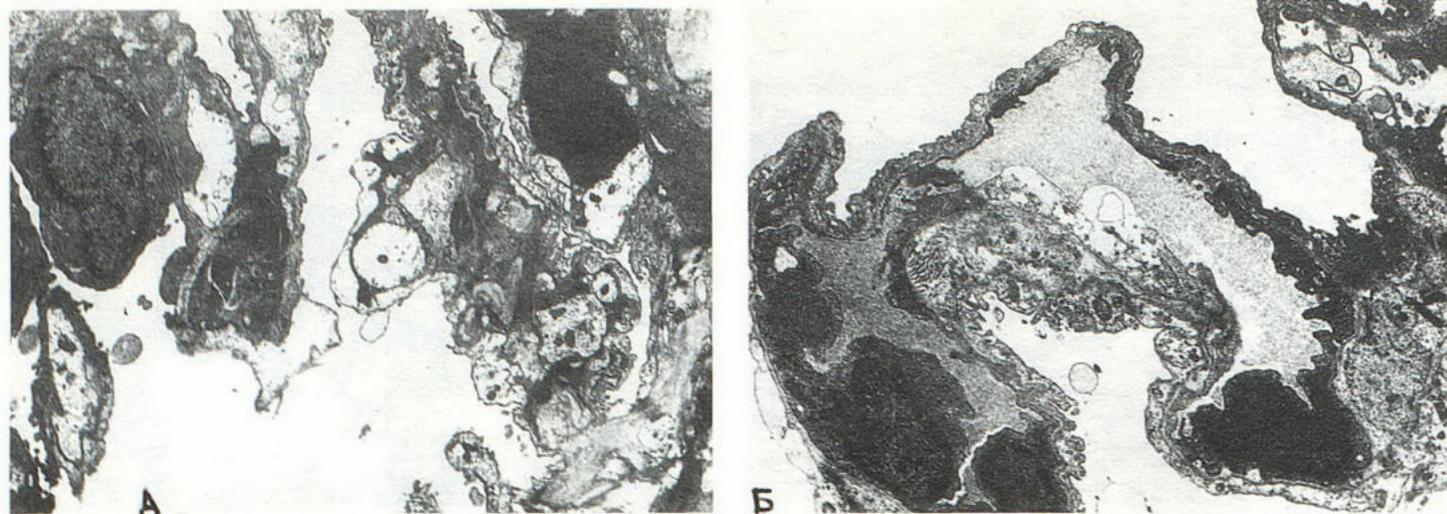


Рис.3. Межальвеолярная перегородка через 14 суток после введения БМ (А) и ингаляций СТ-ВЛ (Б).

Ослабление выраженности отека эпителиальных клеток (→) и эндотелиоцитов (x) у леченых крыс. $\times 8000$.

сниженным ($p < 0,001$). Сохраняющийся и к 30-м суткам дефицит А-II, несмотря на восстановление большинства структурных параметров ткани легкого у подопытных животных, свидетельствовал о длительном персистирующем характере БМ-индуцированных повреждений в ультратонкой организации аэрогематического барьера.

З а к л ю ч е н и е

Результаты гистологического исследования материала с использованием морфометрического метода свидетельствуют о том, что применение сурфактанта ВЛ в качестве лечебного препарата уменьшает выраженность и распространенность БМ-индуцированного альвеолита в поврежденной ткани легкого.

Согласно результатам электронномикроскопического исследования с применением стереометрического метода, введение СТ-ВЛ ослабляет тяжесть БМ-индуцированных альтераций альвеолоцитов II типа с последующей

активизацией процессов репарации на внутриклеточном и популяционном уровнях. Лечебное воздействие использованного препарата на структурно-функциональное состояние сурфактантпродуцирующих клеток является, возможно, одним из механизмов, обеспечивающих лучшую сохранность элементов аэрогематического барьера, а также меньшую выраженность и распространенность альвеолита в поврежденном легком.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Лошакова Л.В., Кириллов Ю.А., Лебедева Е.С., Шульга А.Э., Злотникова Л.А., Алексеевских Ю.Г., Данилов Л.Н., Розенберг О.А. Структурные изменения легких и фосфолипидов легочного сурфактанта при экспериментальном блеомициновом пневмосклерозе у крыс // Бюл. Экспер. биол. — 1991. — № 11. — С.534—536.
2. Розенберг О.А., Шалджян А.А., Сейлиев А.А., Шульга А.Э., Лошакова Л.В., Волчков В.А. Способ получения легочного сурфактанта: Пат. 2066198 РФ.

Т а б л и ц а 2

Характеристика альвеолоцитов II типа в легком крыс на 7-е и 30-е сутки эксперимента

Группы животных	Срок (сут)	Количество исследованных клеток	Поврежденные клетки (%)	Средняя площадь клетки (отн. ед.)	Среднее количество ОПТ на клетку	Количество ядро-содержащих клеток в 100 $\mu\text{м}^2$ ткани
Биологический контроль	7	121	1	12,5 \pm 1,10	8,0 \pm 0,40	0,97 \pm 0,093
	30	101	2	12,5 \pm 0,35	8,0 \pm 0,30	0,97 \pm 0,93
Блеомицин	7	108	20	17,7 \pm 0,84*	4,0 \pm 0,02**	0,47 \pm 0,064**
	30	100	12	15,7 \pm 0,55*	5,5 \pm 0,30**	0,43 \pm 0,080**
Блеомицин + Сурфактант	7	101	10	23,4 \pm 0,90**	6,0 \pm 0,40*	0,31 \pm 0,050**
	<i>p</i>	—	—	<0,01	<0,01	>0,05
	30	107	7	16,0 \pm 0,52*	10,0 \pm 0,60*	0,39 \pm 0,040**
	<i>p</i>	—	—	>0,05	<0,001	>0,05

П р и м е ч а н и я. * — различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,01$; ** — различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,001$; *p* — при сравнении вариантов "БМ" и "БМ+СТ-ВЛ".

3. Слукa Б.А., Таганович А.Д. Морфофункциональные изменения альвеолярного эпителия, макрофагов и сурфактанта легких у крыс при фиброзе, индуцированном блеомицином // Морфология.— 1993.— Т.104, № 3—4.— С.119—130.
4. McNulty R.J., Laurent G.J. Pathogenesis of lung fibrosis and potential new therapeutic strategies // Exp. Nephrol.— 1995.— Vol.3.— P.96—107.
5. Van Iwaarden J.F., Van Golde M.G. Pulmonary surfactant and lung defence: Interactions of surfactant proteins with phagocytic cells and pathogens // Surfactant Therapy for Lung Disease /

- Ed. B.Robertson, H.W.Taeusch.— New York: Marcel Dekker, 1995.— P.75—94.
6. Phan S.H., Kunkel S.L. Lung cytokine production in bleomycin-induced pulmonary fibrosis // Exp. Lung Res.— 1992.— Vol.18.— P.29—43.
 7. Wilsher M.L., Hughes D.A., Haslan P.L. Immunoregulatory properties of pulmonary surfactant: influence of variations in phospholipid profile // Clin. Exp. Immunol.— 1988.— Vol.73.— P.117—122.

Поступила 13.02.98.

© АБРОСИМОВ В.Н., 1998

УДК 616.12-009.86-07:616.24-008.4-072.7

КАПНОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ДЫХАНИЯ У БОЛЬНЫХ НЕЙРОЦИРКУЛЯТОРНОЙ ДИСТОНИЕЙ

В.Н.Абросимов

Кафедра терапии факультета последипломного образования Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова

CAPNOGRAPHY IN DIAGNOSIS OF FUNCTIONAL RESPIRATORY DISORDERS IN PATIENTS WITH NEUROCIRCULATORY DYSTONIA

V.N.Abrosimov

Summary

The study of functional respiratory disorders in patients with neurocirculatory dystonia has been conducted. Various respiratory disorders combined to hypocapnia, hypercapnia, normocapnia and changers of respiratory patterns are revealed. The features of acute hyperventilatory syndrome course are presented. It is signed that the capnographic investigation is important for clinical interpretation of functional respiratory disorders.

Резюме

Проводилось изучение функциональных нарушений дыхания у больных нейроциркуляторной дистонией. Выявлены различные варианты нарушений дыхания, которые сочетались с гипо-, гипер-, нормокапнией, изменениями дыхательного паттерна. Подчеркивается важность капнографического исследования для клинической интерпретации функциональных нарушений дыхания.

Среди основных клинических проявлений нейроциркуляторной дистонии (НЦД) одним из наиболее частых является так называемый респираторный синдром (РС). Трактовка понятия РС до сих пор является предметом оживленной дискуссии поэтому наряду с термином респираторный синдром существуют и такие как "функциональный синдром", "респираторная дискинезия", "дыхательный невроз", "нейрореспираторная дистония", "поведенческая одышка". Большинство авторов отождествляет дыхательные расстройства при НЦД с гипервентиляционным синдромом (ГВС).

Субъективная характеристика дыхательных расстройств при НЦД достаточно ярко представлена в литературе. Так, В.И.Маколкин, С.А.Аббакумов (1985) представляют следующие основные признаки: чувство "кислородного голода", "тоскливых вздохов", тахипноэ, снижение максимальной легочной вентиляции и увеличение остаточного объема.

Вместе с тем до настоящего времени нет общепринятых методов объективной диагностики РС. Следует отметить, что традиционная спирография не позволяет определять тонкие функциональные нарушения дыхания. Является важным и то обстоятельство, что ротовой загубник и носовая клипса, используемые при спирографии, могут влиять на показатели дыхания [7]. Tobin J.M. et al. (1983) отметили, что пациенты с хронической тревогой имеют склонность к более ровному дыханию с ротовым загубником и носовой клипсой. Имеется указание, что ГВС может привести и к снижению функциональных проб — это так называемый "фальшивый результат" [4].

Цель настоящей работы — представить клиническую характеристику РС и предложить интерпретацию данных капнографического исследования больных НЦД. Диагноз НЦД устанавливался с учетом общепринятых критериев [1].