

*А.С.Ростовщиков, А.Л.Черняев, А.А.Жаворонков*

## СТЕРЕОУЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ТРАХЕИ И БРОНХОВ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТУПЕНЧАТОМ ОБЩЕМ ОХЛАЖДЕНИИ

Кафедра патологии медицинского факультета УГУ, НИИ пульмонологии МЗ РФ,  
НИИ морфологии РАМН

THE STEREOULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF RATS' TRACHEAL AND BRONCHIAL EPITHELIUM IN  
TOTAL EXPERIMENTAL COOLING

*A.S.Rostovschikov, A.L.Chernyayev, A.A.Zhavoronkov*

### Summary

25 white male rats of no breed were subjected to gradual total cooling from +5 to -15 degrees Centigrade every day for 5 weeks, six hours a day, to study the stereoultrastructural surface epithelium arrangement of the trachea and major bronchi. Our research singled out and allowed to characterise three stages of the adaptive compensatory reaction of the respiratory tract epithelium: adaptive tension, stabilisation and adaptation.

### Резюме

Изучена стереоультраструктурная организация поверхности эпителия трахеи и крупных бронхов 25 беспородных белых крыс-самцов при ступенчатом общем охлаждении от +5°C до -15°C в течение пяти недель по 6 часов ежедневно. Выделены и охарактеризованы три периода компенсаторно-приспособительной реакции эпителия воздухопроводящих путей во время общего ступенчатого охлаждения: период адаптационного напряжения, период стабилизации и период адаптированности.

В условиях Севера органы дыхания человека и животных подвергаются глубокой приспособительной перестройке, направленной на обеспечение нормальной жизнедеятельности организма [1]. В этих условиях возникает затрудненное дыхание, напряжение газообмена, что клинически проявляется одышкой, носящей название полярной. Известно, что низкие температуры являются раздражителем рецепторов верхних дыхательных путей, вызывая ларинго- и бронхоспазм. Описаны наблюдения с развитием ознобления легких в условиях антарктических экспедиций [1]. При этом может возникнуть острый бронхит и бронхиолит с десквамацией эпителия трахеи и крупных бронхов. Однако морфологическое описание изменений трахеи и бронхов при общем охлаждении организма было проведено лишь на светооптическом уровне [1,3,4]. Вместе с тем до сих пор остается неясной роль холодового воздействия на мукоцилиарный клиренс и возникновение патологии легких, то есть не описан морфологический субстрат повреждения эпителия дыхательных путей при этом. Динамика стереоультраструктурных изменений трахеи и крупных бронхов может быть оценена только в условиях эксперимента при общем охлаждении животных при низких температурах.

Целью настоящего исследования явилось изучение стереоультраструктурных изменений эпителия трахеи

и бронхов при экспериментальном общем ступенчатом охлаждении.

Исследование выполнено на 25 беспородных крысах-самцах с начальной массой тела  $105 \pm 5$  г.

**Модель общего ступенчатого охлаждения.** В климатической камере "Фоутрон" (Германия) животных подвергали общему охлаждению ежедневно по 6 часов шесть дней в неделю в течение 5 недель: первая неделя (+5°C), вторая (0°C), третья (-5°C), четвертая (-10°C), пятая (-15°C). Животные в камере находились в отдельных ячеек, не стеснявших их движение. Во время пребывания в камере подсчитывалось число дыхательных движений у крыс в 1 минуту и измерялась ректальная температура на глубине 1,5 см от анального отверстия до и после извлечения их из холодильной камеры. Контрольную группу составили 5 животных с той же начальной массой тела, которые находились в 2 метрах от холодильной камеры в отдельных ячейках по 6 часов ежедневно в течение 5 недель эксперимента. В конце каждой недели эксперимента под нембуталовым наркозом забивали по 5 животных.

После усыпления животным интратрахеально через канюлю до извлечения легких из грудной полости вводили 2,5% раствор глютаральдегида на 0,135 М фосфатном буфере (рН 7,4) для фиксации эпителия дыхательных путей в легких под давлением [6]. После

извлечения комплекса легкие—сердце трахею и бронхи вскрывали по задней поверхности. Из верхней, средней и нижней трети трахеи, из главных и сегментарных бронхов брали по 3 кусочка стенки размерами 0,7×0,7 см, которые фиксировали в том же растворе глутаральдегида в течение 6 часов. Затем кусочки дегидратировали в спиртах восходящей крепости и высушивали при критической точке в CO<sub>2</sub>. Полученные кусочки монтировали эпителием вверх на металлических держателях, поверхность напыляли золотом, просматривали и фотографировали в сканирующем электронном микроскопе "Hitachi S-500" (Япония) при ускоряющем напряжении 20—25 кВт.

Во время охлаждения частота дыханий в первые 2 часа после помещения крыс в камеру в среднем увеличивалась на 33% и дыхание было поверхностным, в последующие 4 часа частота дыхания практически не отличалась от первоначальных показателей (до помещения в холодильную камеру). После 6 часов охлаждения ректальная температура падала в среднем на 0,45±0,02°С.

При стереоультраструктурном исследовании трахеи у контрольных животных поверхность во всех отделах была представлена непрерывным однонаправленным реснитчатым покровом (рис.1, а), в крупных и сегментарных бронхах между реснитчатыми клетками были видны промежутки с апикальной поверхностью бокаловидных клеток (рис.1, б).

При стереоультраструктурном исследовании трахеи и бронхов через неделю охлаждения существенных изменений поверхности эпителия не происходило.

Через две недели общего охлаждения в трахее (рис.2, а) и бронхах (рис.3, а) всех изученных калибров увеличивалось число бокаловидных клеток в пред- и постсекреторной фазе. При этом особенно в бронхах наблюдалось повреждение ресничек, которые местами частично или полностью отсутствовали и почти вся поверхность замещалась бокаловидными клетками (см. рис.3, а). В трахее на поверхности эпителия встречались отдельные эритроциты (см. рис.2, а).

На третьей неделе эксперимента наблюдались наиболее выраженные изменения покровного эпителия трахеи и бронхов. При этом увеличивалось число бокаловидных клеток в постсекреторной фазе с широкими устьями на апикальной поверхности клеток (рис.2, б). Реснички располагались в разных направлениях, местами слипались между собой (рис.2, б; 3, б). В бронхах в этот период появлялись обширные поля, полностью лишённые ресничек, а также реснитчатые клетки на разных стадиях цилиогенеза, что свидетельствовало о начале регенераторных процессов.

На четвертой неделе охлаждения при -10°С в трахее число бокаловидных клеток уменьшалось по сравнению с предыдущей неделей эксперимента. При этом реснитчатый покров эпителия почти полностью восстанавливался, хотя множество ресничек были

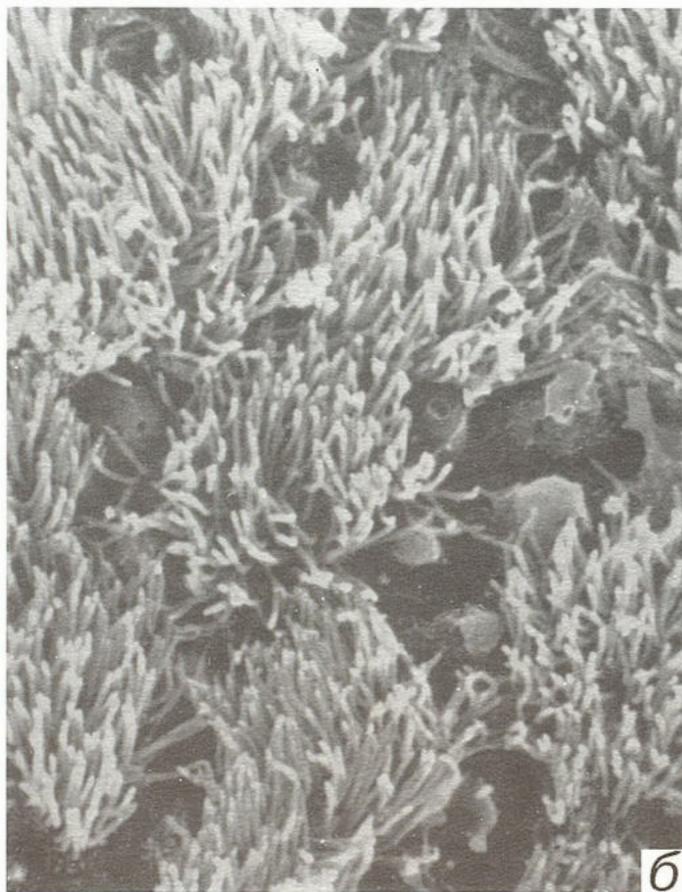
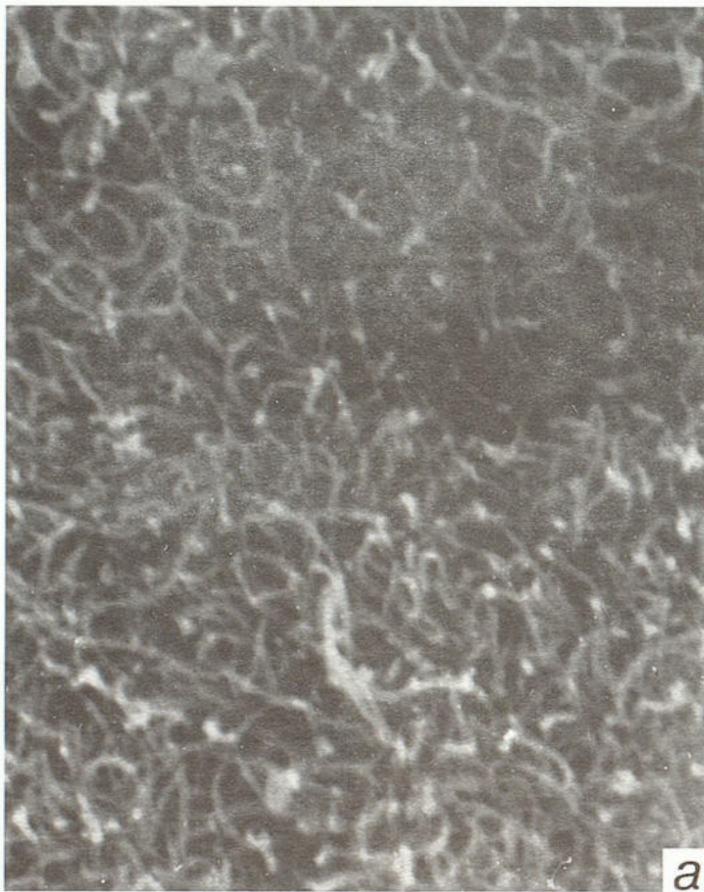


Рис.1. Стереоультраструктура поверхности эпителия трахеи (а) и бронха (б) у контрольных крыс. Непрерывный однонаправленный реснитчатый покров; а ×3000, б ×3500.

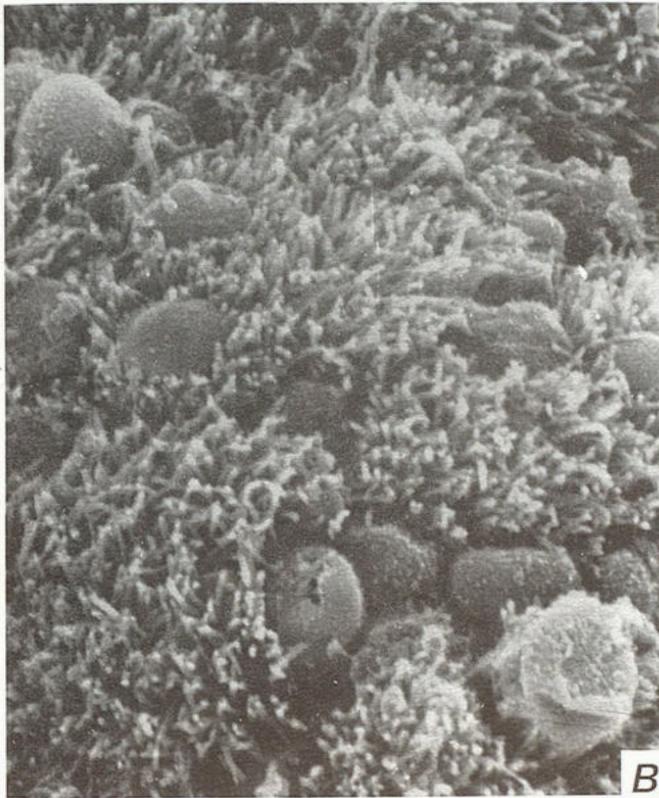
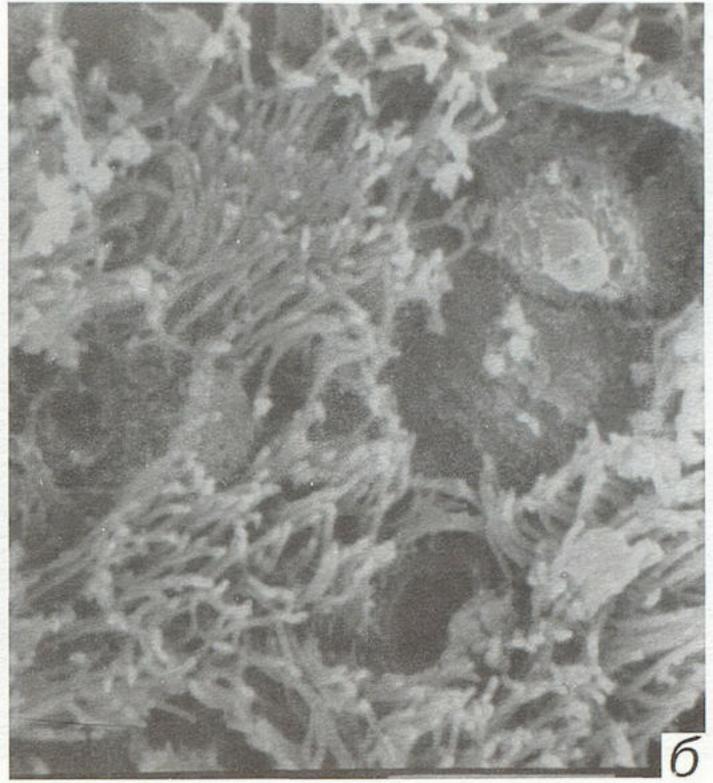
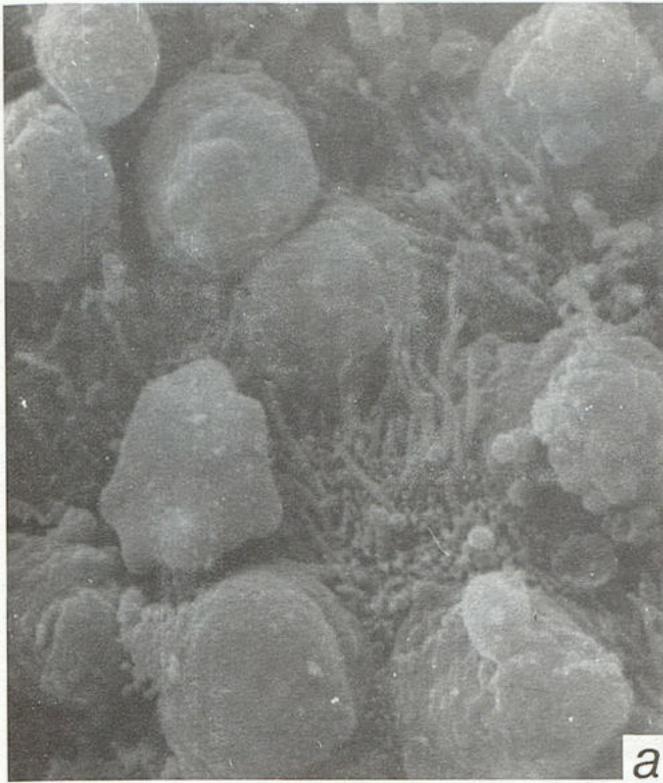


Рис. 2. Стереоультраструктура эпителия трахеи у крыс при ступенчатом общем охлаждении.

а — вторая неделя охлаждения. Усиление секреторной активности бокаловидных клеток, слипание ресничек.  $\times 3500$ ; б — третья неделя охлаждения. Пред- и постсекреторные фазы секреции бокаловидных клеток.  $\times 4000$ ; в — четвертая неделя охлаждения. Увеличенное число секреторных гранул бокаловидных клеток, почти полностью восстановившийся реснитчатый покров эпителия.  $\times 2500$ ; г — пятая неделя охлаждения. Полное восстановление реснитчатого покрова эпителия и разнонаправленность групп ресничек.  $\times 1500$ .

слипшимися между собой и направлены в разные стороны (рис. 2, в). В крупных и сегментарных бронхах число бокаловидных секретирующих клеток оставалось

на том же уровне, что и на третьей неделе охлаждения, реснички эпителиальных клеток располагались хаотично, иногда слипались между собой, а иногда

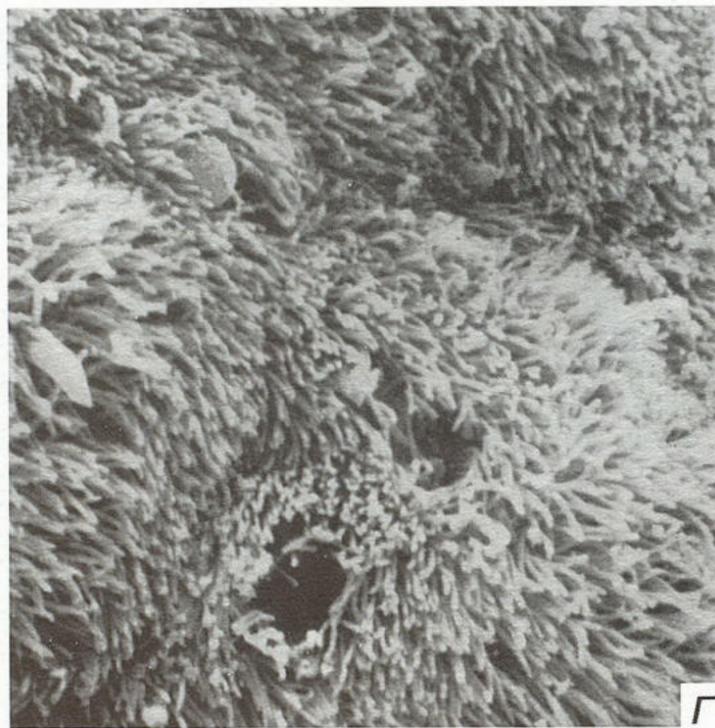
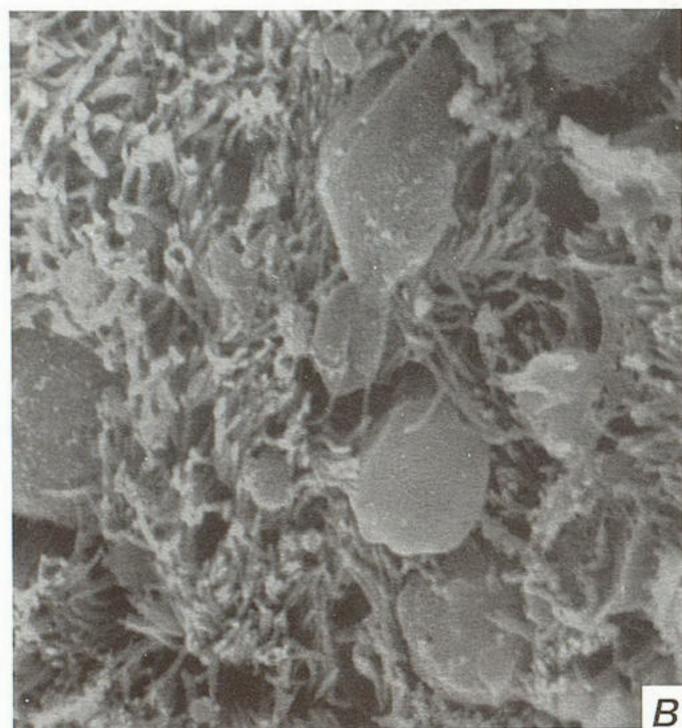
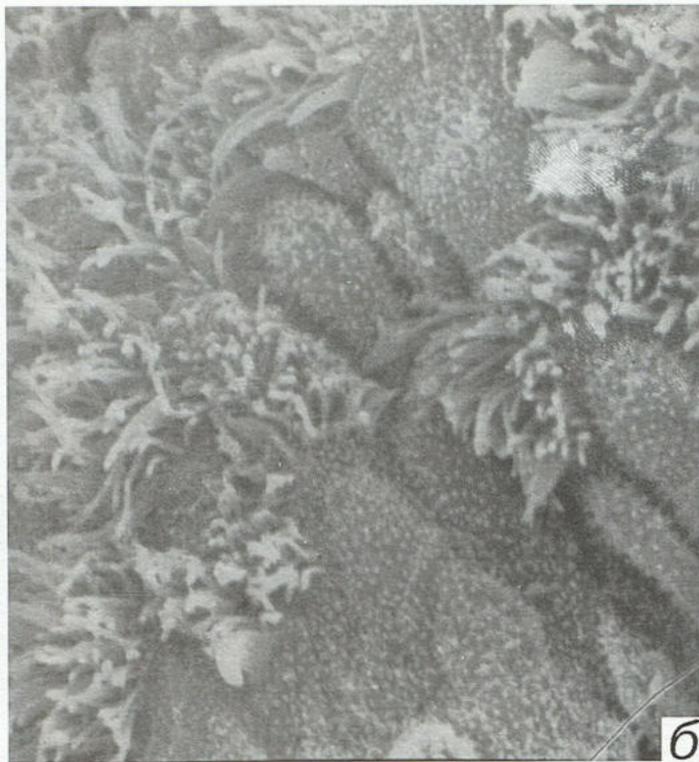
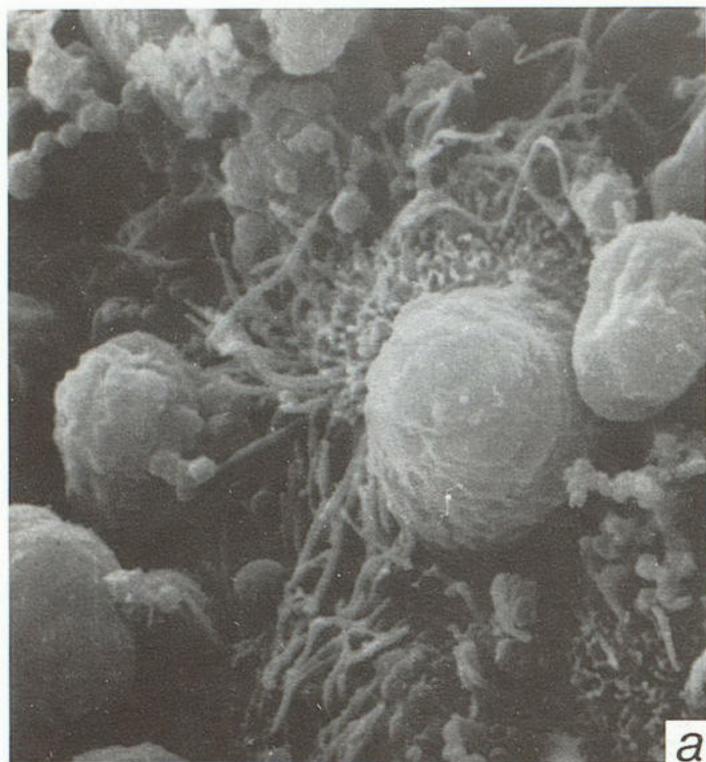


Рис.3. Стереультраструктура эпителия главных, долевых и сегментарных бронхов у крыс при ступенчатом общем охлаждении.

*а* — вторая неделя охлаждения. Главный бронх правого легкого. Увеличенное число секретирующих бокаловидных клеток, утрата части ресничек.  $\times 4000$ ; *б* — третья неделя охлаждения. Нижнедолевой бронх левого легкого. Множество эпителиальных клеток, лишенных ресничек, сохранившиеся реснички разной длины, очаговый межклеточный отек.  $\times 3500$ ; *в* — четвертая неделя охлаждения. Пятый сегментарный бронх правого легкого. Большое число бокаловидных клеток, нарушенный реснитчатый покров.  $\times 4000$ ; *г* — пятая неделя охлаждения. Главный бронх правого легкого. Полное восстановление реснитчатого покрова эпителия при разнонаправленности групп ресничек.  $\times 3000$

было видно слущивание отдельных эпителиоцитов (рис.3, *в*).

Несмотря на усиление холодового режима на пятой неделе эксперимента в трахее и бронхах число реснит-

чатых клеток преобладало над бокаловидными, реснитчатый покров почти полностью восстанавливался. Крайне редко можно было встретить слипшиеся реснички и углубления на местах выделившегося секрета

из бокаловидных клеток (рис.2, г; 3, г). Следует, однако, заметить, что группы ресничек были дискоординированы.

Адаптированность к экстремальным условиям обитания достигается определенной "платой" в виде потерь и повреждений клеточных элементов разных систем организма человека и животных [1,2]. При адаптации к общему охлаждению наиболее выраженные патоморфологические изменения возникают в верхних дыхательных путях, в трахее и хрящевых бронхах. В ответ на холодное воздействие и гипоксию усиливается секреторная активность бокаловидных клеток и желез подслизистого слоя при одновременном повреждении апикальной поверхности реснитчатых клеток. Эти изменения, с одной стороны, обусловлены согреванием поступающего через дыхательные пути холодного воздуха, а с другой — приводят к нарушению мукоцилиарного клиренса, что может явиться причиной возникновения бронхопневмонии. В нашем исследовании, однако, ни в одном наблюдении пневмония не встретилась. Наиболее выраженные изменения эпителиального покрова были обнаружены на второй и третьей неделях эксперимента. Подобные изменения верхних дыхательных путей наблюдали Ю.Б.Исхаки и др. (1989) при высокогорной адаптации кроликов. В их исследовании имело место сочетание воздействия холодного воздуха и гипоксии. Следует отметить однотипность адаптационных реакций верхних дыхательных путей, а также трахеи и бронхов на экстремальное ингаляционное воздействие. В нашем исследовании начиная с четвертой недели эксперимента развиваются репаративные процессы в реснитчатых клетках трахеи и, в меньшей степени, в бронхах. В то же время в этот период еще сохраняется высокая секреторная активность бокаловидных клеток. К пятинедельному сроку эксперимента реснитчатый покров трахеи практически не отличался от контрольных наблюдений. Обращает на себя внимание, что к этому времени все еще сохраняется дискоординация реснитчатого аппарата при одновременном резком уменьшении числа секретирующих бокаловидных клеток.

Следовательно, при ступенчатом холодном воздействии адаптация эпителиального покрова наступает к пятой неделе эксперимента и, скорее всего, будет носить долговременный характер. Это согласуется с

результатами исследований по адаптации дыхательных путей к высокогорью [2] и общей теории стресса по Г.Селье [5]. Описанные стереоультраструктурные изменения слизистой оболочки трахеи и бронхов при ступенчатом общем охлаждении характеризуют три периода адаптогенеза, описанные Ю.Б.Исхаки и др. [2]. Первый период — период адаптационного напряжения (первые три недели охлаждения) характеризуется повреждением реснитчатого аппарата эпителиальных клеток, вплоть до его частичной гибели, и увеличением числа секретирующих бокаловидных клеток. Второй период — период стабилизации (третья-четвертая неделя охлаждения) — характеризуется частичным восстановлением реснитчатых клеток, снижением числа и уровня секреции бокаловидных клеток. Для третьего периода — периода адаптированности (пятая неделя эксперимента) — характерно полное восстановление реснитчатого аппарата трахеи и бронхов и резкое уменьшение секретирующих бокаловидных клеток.

Таким образом, представленные стереоультраструктурные изменения трахеи и бронхов при ступенчатом охлаждении животных носят компенсаторно-приспособительный характер, что позволяет в пятинедельный период достичь состояния адаптированности слизистой оболочки дыхательных путей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Марачев А.Г., Милованов А.П. Патология человека на Севере.— М.: Медицина, 1985.— 416 с.
2. Исхаки Ю.Б., Жаворонков А.А., Ростовщиков А.С. Дыхательные пути и высокогорье.— Душанбе: Ифрон, 1989.— 128 с.
3. Луценко М.Т., Целуйко С.С., Красавина Н.П. Особенности морфологических изменений органов дыхания к воздействию низких температур // Международный симпозиум по полярной медицине, 4-й.— Новосибирск, 1978.— С.99—100.
4. Милованов А.П., Моммадов А. Повреждение и адаптация бронхов легких у крыс в процессе длительного ступенчатого охлаждения // Биологические проблемы Севера.— Магадан, 1983.— С.111—112.
5. Романова Л.К., Покровская М.С. Реакция сурфактантной системы и воздушно-кровяного барьера легких на общую острую гипотермию // Бюл. exper. биол.— 1982.— № 9.— С.97—101.
6. Селье Г. Стресс и сердечно-сосудистые заболевания // Актуальные проблемы физиологии и патологии кровообращения.— М.: Медицина, 1976.— С.14—26.

Поступила 10.07.97.