

4. Chuchalin A.G., Grobova O.M., Cherniaev A.L. et al. The Delayed Respiratory Consequences of Inhaled Radionuclides in Population Exposed to Nuclear Catastrophe // Stem Cells.— 1995.— Vol.13, Suppl.1.— P.276—282.
5. Paschal D.C., DiPietro E.S., Donald L. et al. Age Dependence of Metals in Hair a Selected U.S. Population // Environ. Res.— 1989.— Vol.48.— P.17—28.
6. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL / Ed. H. Klech, W.Pohl // Eur. Respir. J.— 1989.— Vol.2.— P.561—585.

Поступила 22.06.96.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1996

УДК 616.24-091-092.9

Г.П.Артюнина, С.А.Игнаткова, О.М.Грובה, Р.В.Петухов

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ В
ЛЕГКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ
ИНТРАТРАХЕАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ СУЛЬФАТА НИКЕЛЯ**

Научно-исследовательская лаборатория гигиены и профпатологии, Кировск;
НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва

MORPHOLOGICAL CHANGES IN LUNGS OF EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER
INTRATRACHEAL INTRODUCTION OF NICKEL SULFATE

G.P.Artyunina, S.A.Ignatkova, O.M.Grobova, R.V.Petuchov

S u m m a r y

The peculiarities of lung pathology formation under influence of inhalation of partially soluble nickel combinations in workers, producing nickel by electrolyse, have not been studied enough for today. The aim of this study was to evaluate morphological changes in lungs of 180 experimental animals under influence of 1-, 3- and 6-months exposure to nickel sulfate.

Morphological alterations in lung tissue after nickel sulfate exposition were characterized by development of lymphocyte-macrophage alveolitis with predominance of lymphocyte infiltration of stroma, septal oedema and an increase in alveolar macrophage count. 3-month nickel exposure led to enhancing proliferative — granulomatous stroma reaction, appearance of emphysema, wide-spread dystelectasis and vasculitis. Lung tissue alterations were accompanied by inflammatory reactions in bronchi and bronchioli; severity of these reactions depends on exposure time and may vary from exudative to proliferative ranges ending in pronounced hyperplasia of local immune foci.

Р е з ю м е

Особенности формирования патологического процесса в ткани легких при ингаляции частично растворимых соединений никеля, возникающих у рабочих, занятых производством никеля электролизным способом, практически не изучены. В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования было изучение морфологических изменений, возникающих в ткани легких 190 экспериментальных животных при 1-, 3- и 6-месячном воздействии серноокислого никеля.

Морфологические изменения в ткани легких при экспериментальном воздействии сульфата никеля характеризуются развитием лимфоцитарно-макрофагального альвеолита с преобладанием на начальном этапе лимфоцитарной инфильтрации стромы, септального отека, увеличением количества альвеолярных макрофагов. Начиная с трехмесячного срока воздействия отмечается усиление пролиферативно-гранулематозной реакции стромы, присоединения эмфиземы, распространенных дистелектазов, васкулита. Изменение в паренхиме легких сопровождается воспалительными изменениями в бронхах и бронхиолах, спектр которых в зависимости от длительности эксперимента колеблется от экссудативных до пролиферативных, заканчиваясь формированием выраженной гиперплазии местных иммунных фокусов БАЛТ.

Гидрометаллургические методы переработки рудного сырья и селективного извлечения металлов наибольшее распространение получили в нашей стране на предприятиях, перерабатывающих сульфитные медно-

никелевые руды. Основным вредным производственным фактором в электролизных цехах является высокий уровень загрязнения воздуха рабочих зон гидроаэрозолем никеля.

Состояние эпителиального пласта бронхов и бронхиол на разных сроках в контроле и эксперименте

Показатели	Экссудат в просвете бронхов			Эпителий		Эозицитоз					
	Доля от общего кол-ва					Нейтрофилы			Лимфоциты		
	нейтрофилы	лимфоциты	слизь	реснитчатый	десквамиро- ванный	0	<6	>6	0	<6	>6
1 месяц											
Контроль	0	100	0*	60*	0	60*	0	0	0	60	0
Эксперимент	0	100	0	30	30	60	0	0	0	60	0
3 месяца											
Контроль	0	100	0	60	0	60	0	0	0	60	0
Эксперимент	44	56	20	50	10	0	60	0	0	0	60
6 месяцев											
Контроль	0	100	0	60	0	60	0	0	0	60	0
Эксперимент	24	76	0	80	20	100	0	0	0	60	40

П р и м е ч а н и е. * — здесь и в других таблицах количество однотипных полей зрения с данным признаком.

Влияние труднорастворимых соединений никеля на формирование патологии органов дыхания и функциональную активность клеток легких *in vitro* достаточно изучено. Однако особенности формирования патологического процесса в тканях легких при ингаляции частично растворимых соединений никеля, возникающего у рабочих, занятых производством никеля электролизным способом, практически не изучены. В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования было изучение морфологических изменений, возникающих в тканях легких экспериментальных животных при различной длительности ингаляционного воздействия сернокислого никеля.

Белым беспородным крысам-самцам средней массой $243,2 \pm 7,2$ г (всего 190 животных) интратрахеально вводили сульфат никеля в дозе, приближенной к

концентрации в производственных условиях и составляющей по никелю 30 мкг на 1 половозрелую беспородную крысу-самца. В качестве контроля служили животные, которым вводили изотонический раствор хлорида натрия (физиологический раствор). Введение сульфата никеля и физиологического раствора проводили в стандартных условиях 2 раза в неделю.

Изучение ткани легких проводили через 1, 3 и 6 месяцев воздействия. Кусочки ткани легких фиксировали в нейтральном формалине и заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону.

В парафиновых срезах проводили полуколичественный анализ состояния структурных элементов бронхов, паренхимы и сосудов легких на 20 полей зрения среза при увеличении $\times 400$. Проводили определение встре-

Характер воспалительной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки бронхов и бронхиол на разных сроках в контроле и эксперименте

Показатели	Состав									Характер			Выраженность		
	нейтрофилы			лимфоциты			гистиоциты			очаговый	очагово- диффуз- ный	диффуз- ный	слабая	умеренная	сильная
Группы	0	<6	>6	0	<6	>6	0	<6	>6						
1 месяц															
Контроль	60	0	0	0	60	0	0	60	0	60*	0	0	60	0	0
Эксперимент	60	0	0	0	60	0	0	60	0	20	0	20	20	40	0
3 месяца															
Контроль	60	0	0	0	60	0	0	60	0	60	0	0	60	0	0
Эксперимент	0	60	0	0	0	60	0	60	0	0	0	60	0	20	40
6 месяцев															
Контроль	60	0	0	0	60	0	0	60	0	60	0	0	60	0	0
Эксперимент	60	0	0	0	20	80	0	60	0	0	20	80	0	20	80

Таблица 3

Степень гиперплазии БАЛТ на разных сроках в контроле и эксперименте

Группы	Степень гиперплазии			Формирование фолликулов
	слабая	умеренная	выраженная	
Контроль	60	0	0	10
1 месяц	0	60	0	60
3 месяца	0	40	20	60
6 месяцев	0	20	80	60

чаемости разнообразных признаков на просмотренные поля зрения. Оценку присутствия различных эффекторных клеток в составе инфильтратов осуществляли полуколичественным способом, проводя регистрацию однотипных полей зрения с отсутствием эффекторных клеток, с их присутствием до 6 клеток в поле зрения, с их присутствием более 6 клеток в поле зрения при $\times 400$. Результаты гистологического и морфометрического методов исследований контрольных легких и легких в группах наблюдения при различной длительности воздействия сульфата никеля представлены в таблицах 1—5.

Микроскопическое исследование легких крыс контрольной группы на всех временных этапах исследования не выявило патологических изменений и соответствовало картине, описанной в литературе как нормальное строение легких крыс. Эпителий бронхов был представлен цилиндрическими реснитчатыми клетками без явлений десквамации и стратификации. Среди клеток эпителиального пласта бронхов обнаружили единичные внутриэпителиальные лимфоциты (ВЭЛ). В собственной пластинке слизистой отмечена скудная диффузная инфильтрация единичными лимфоцитами. Исследование терминальных и респираторных бронхиол, альвеолярных ходов и альвеол патологических изме-

нений также не выявило. Клеточные элементы в строении межальвеолярных перегородок были представлены единичными лимфоцитами и гистиоцитами. Соединительнотканые волокна — пикринофильными коллагеновыми волокнами. Сосуды на всех уровнях были представлены артериолами и венулами без патологии. Бронхоассоциированная лимфоидная ткань (БАЛТ) была представлена скоплениями по 12—15 лимфоцитов в местах деления бронхов.

Микроскопическое изучение легких крыс после окончания одномесячного воздействия сульфата никеля в большинстве полей зрения легочной ткани определяло участки дистелектазов, окруженные участками альвеол с измененным просветом. Характер изменений сегментарных бронхов, терминальных и респираторных бронхиол был расценен как минимальная степень активности катарального бронхита в стадии слизистого катара, проявлявшегося наличием скудного слизистого экссудата в просвете единичных бронхов, пролиферацией бокаловидных клеток эпителия. Количество ВЭЛ соответствовало выявленным в контроле. Базальная мембрана эпителия была утолщена и отечна; в большинстве полей зрения представлена рыхлыми пикринофильными коллагеновыми волокнами. Воспалительный инфильтрат собственной пластинки слизистой оболочки был представлен очаговой или диффузной, чаще скудной и реже умеренной, лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрацией без нейтрофилов. Элементы БАЛТ были умеренно гиперплазированы. Формирование лимфоэпителиальных фолликулов отмечалось во всех проанализированных сегментарных бронхах.

В просвете сохранившихся неизменными альвеол количество клеточных элементов было увеличено по сравнению с контрольной группой, и они были представлены альвеолярными макрофагами и единичными лимфоцитами. Особенностью этих клеток было резкое увеличение размера и вакуолизация цитоплазмы. Часто подобные клетки формировали комплексы в просвете альвеол. Межальвеолярные перегородки в области сохранившихся альвеол были несколько утолщены за

Таблица 4

Состояние просвета альвеол и межальвеолярных перегородок на разных сроках в контроле и эксперименте

Группы	Состояние просвета			Экссудат			Инфильтрат МАП								
	Норма	Дистел.	Эмфи-зема	нф	лц	АМФ	нф			лц			гц		
							0	<6	>6	0	<6	>6	0	<6	>6
1 месяц															
Контроль	60*	0	0	0	0	60	60	0	0	0	60	0	0	60	0
Эксперимент	20	0	40	0	0	60	60	0	0	0	60	0	0	60	0
3 месяца															
Контроль	60	0	0	0	0	60	60	0	0	0	60	0	0	60	0
Эксперимент	0	40	20	60	60	60	0	60	0	0	60	0	0	60	0
6 месяцев															
Контроль	60	0	0	0	0	60	60	0	0	0	60	0	0	60	0
Эксперимент	0	70	30	0	60	60	60	0	0	0	0	100	0	100	0

Состояние стенки сосудов на разных сроках эксперимента

Группы	Инфильтрат стенки						Периваскулярная инфильтрация								
	нф			лц			нф			лц			гц		
	0	<6	>6	0	<6	>6	0	<6	>6	0	<6	>6	0	<6	>6
1 месяц															
Контроль	60*	0	0	60	0	0	0	0	0	0	60	0	0	60	0
Эксперимент	60	0	0	0	60	0	0	0	0	0	60	0	0	60	0
3 месяца															
Контроль	60	0	0	60	0	0	0	0	0	0	60	0	0	60	0
Эксперимент	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	0	60	0	0	60
6 месяцев															
Контроль	60	0	0	60	0	0	0	0	0	0	60	0	0	60	0
Эксперимент	60	40	0	0	20	80	50	50	0	0	0	100	0	100	0

счет отека, умеренной лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрации без примеси нейтрофилов. Кроме того, в большинстве альвеол отмечалась умеренно выраженная пролиферация альвеолоцитов. Сосуды были с плоским эндотелием и умеренно выраженным воспалительным инфильтратом стенки преимущественно из лимфоцитов и единичных нейтрофилов. Периваскулярная лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация без нейтрофилов была преимущественно скудной.

При микроскопическом исследовании легких крыс после 3 месяцев воздействия сульфата никеля в большинстве полей зрения легочной ткани определялись участки дистелектазов, окруженные фокусом викарной эмфиземы. В некоторых участках ткань перенхимы легких имела сотовый характер. Начиная с уровня сегментарных бронхов до респираторных бронхиол определялась картина острого катарального бронхита в стадии гнойного катара, проявлявшегося наличием гнойно-слизистого экссудата в 20% просветов бронхов и пролиферацией бокаловидных клеток эпителия. Наряду с увеличением количества ВЭЛ, отмечалось появление среди клеток эпителия нейтрофилов. Базальная мембрана была утолщена и отечна и представлена рыхлыми пикринофильными коллагеновыми волокнами. Воспалительный инфильтрат собственной пластинки слизистой оболочки был представлен диффузной умеренно или значительно выраженной лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрацией с примесью единичных нейтрофилов. Элементы БАЛТ были умеренно гиперплазированы. Формирование лимфоэпителиальных фолликулов отмечалось во всех проанализированных сегментарных бронхах животных этой группы. В просвете эмфизематозно расширенных и сохранившихся неизменными альвеол наряду с альвеолярными макрофагами определялись лимфоциты и единичные нейтрофилы. В просвете некоторых альвеол кроме клеточных элементов выявлено небольшое количество базофильной жидкости. Межальвеолярные перегородки в областях сохранившихся или эмфизематозных альвеол были несколько утолщены за счет отека, умеренной лим-

фоидно-гистиоцитарной инфильтрации с примесью единичных нейтрофилов и расширения капилляров. В области дистелектазов и вокруг мелких бронхов с признаками выраженного воспалительного процесса просвет альвеол был практически полностью заполнен воспалительным экссудатом, состоящим из нейтрофилов, лимфоцитов и крупных макрофагов с признаками дистрофии.

Межальвеолярные перегородки утолщены, отечны, инфильтрированы нейтрофилами, лимфоцитами и гистиоцитами. Кроме того, определялись небольшие лимфоидно-гистиоцитарно-эпителиоидные гранулемы, имеющие нечетко выраженное спиралевидное строение.

Сосуды были с набухшим эндотелием и воспалительным инфильтратом стенки из нейтрофилов и лимфоцитов. Периваскулярно определялась умеренно выраженная лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофилов.

При микроскопическом исследовании легких крыс после 6 месяцев ингаляционного воздействия сульфата никеля в большинстве полей зрения легочной ткани определялись обширные участки дистелектазов, окруженные фокусом викарной эмфиземы. Выраженность катарального бронхита в сегментарных бронхах и бронхиолах нарастала и проявлялась наличием гнойно-слизистого экссудата в 20% просветов бронхов, пролиферацией бокаловидных клеток эпителия. Количество ВЭЛ было значительно выше, чем в двух предыдущих группах. Базальная мембрана была утолщена и отечна и представлена рыхлыми пикринофильными коллагеновыми волокнами. Воспалительный инфильтрат собственной пластинки слизистой оболочки был представлен очагово-диффузной умеренной или выраженной лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрацией. Элементы БАЛТ были значительно гиперплазированы. Формирование лимфоэпителиальных фолликулов также отмечалось во всех проанализированных сегментарных бронхах.

В просвете эмфизематозно расширенных и сохранившихся неизменными альвеол наряду с альвео-

лярными макрофагами определялись лимфоциты. Как и в предыдущих группах межальвеолярные перегородки были утолщены за счет отека и полнокровия капилляров. Однако выраженность лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрации межальвеолярных перегородок в этой группе животных была значительно выше. Кроме того, увеличивалась и впервые обнаруженная после трехмесячного воздействия пролиферация альвеолоцитов. В областях дистелектазов просвет альвеол был практически полностью заполнен скоплениями крупных макрофагов и лимфоцитов. Коллагеновые волокна соединительной ткани межальвеолярных перегородок были преимущественно пикринофильными и лишь в участках эмфиземы фуксинопикринофильными.

Эндотелий сосудов был набухшим. Воспалительный лимфоцитарный инфильтрат стенки сосудов был более выраженным, чем при трехмесячном воздействии. Кроме того, к лимфоцитам присоединялись единичные нейтрофилы. Периваскулярно определялась выраженная лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация.

Таким образом, после 1 месяца воздействия сульфата никеля в бронхах и бронхиолах животных удается обнаружить лишь незначительные изменения по типу катарального воспаления. Основные патологические изменения локализуются на территории паренхимы легких. Они выражаются в появлении фокусов дистелектазов и лимфоцитарно-макрофагального альвеолита. Дистрофические изменения внутриальвеолярных клеток являются, по-видимому, морфологическим подтверждением токсического действия вводимого вещества. Кроме того, обнаружены признаки умеренной пролиферации элементов БАЛТ и реактивного васкулита.

Результатом трехмесячного воздействия является развитие острого катарально-гнойного воспаления бронхов и бронхиол, сочетающегося с комплексом изменений паренхимы легких: дистелектазов, викарной эмфиземы, сотового легкого, альвеолитом со сложной экссудативно-гранулематозно-пролиферативной формой воспалительной реакции. Кроме того, на этом сроке четко выявляются морфологические признаки реактивной перестройки местных клеточных иммунологических систем в виде выраженной гиперплазии элементов БАЛТ. Особого внимания, с нашей точки зрения, заслуживают признаки усиления васкулита у животных этой группы исследования.

Полугодовое воздействие характеризуется снижением остроты экссудативного компонента воспалительных реакций в бронхах и на первый план выходят клеточные иммунологические реакции в виде усиления

пролиферации элементов БАЛТ как в собственной пластинке слизистой оболочки, так и перибронхиально. Выраженность альвеолита, дистелектазов, эмфиземы и васкулита на этом сроке остается стабильно высокой. Признаки созревания соединительной ткани в большей части структурных компонентов отсутствуют и обнаруживаются только в истонченных межальвеолярных перегородках фокусов эмфиземы. Сопоставление морфологических данных с результатами, характеризующими состояние сурфактантной системы легких животных, позволяет охарактеризовать функциональную значимость выявленных морфологических процессов. Так, выявленное нами ранее увеличенное содержание фосфолипидов и макрофагов в жидкости бронхоальвеолярного лаважа на всех сроках воздействия сульфата никеля на фоне пролиферации альвеолоцитов может, очевидно, указывать на усиленную выработку этого липидного компонента сурфактанта. Увеличение продукции сурфактанта запускает другую компенсаторную реакцию — микрофагальный цитоз, направленный на его утилизацию.

Электронно-микроскопическое исследование легких кроликов, экспонированных аэрозолем NiCl_2 в течение 4 месяцев, выявило увеличение как альвеолоцитов II типа, так и доли среди них клеток с большим числом пластинчатых телец в цитоплазме, указывающих на синтез сурфактанта. Эти электронно-микроскопические признаки сопровождалась увеличением содержания фосфолипидов в гомогенатах ткани легкого. Результаты нашего исследования аналогичны, если допустить, что большие светлые клетки — альвеолоциты.

Таким образом, морфологические изменения в ткани легких при экспериментальном воздействии сульфата никеля характеризуются развитием лимфоцитарно-макрофагального альвеолита с преобладанием на начальном этапе лимфоцитарной инфильтрации стромы с септальным отеком, увеличением количества альвеолярных макрофагов. Начиная с трехмесячного срока воздействия отмечается усиление пролиферативно-гранулематозной реакции стромы, присоединение эмфиземы, распространенных дистелектазов, васкулита. Изменение в паренхиме легких сопровождается воспалительными процессами в бронхах и бронхиолах, спектр которых в зависимости от длительности эксперимента колеблется от экссудативных до пролиферативных, заканчиваясь формированием выраженной гиперплазии местных иммунных фокусов БАЛТ.

Поступила 14.06.96.