

зано [15] повышение пикового СД ЛЖ при увеличении объема ПЖ. Goldstein et al. [10] исследовали систолическое взаимодействие желудочков при ишемии ПЖ и инотропной стимуляции на открытом сердце собаки. Окклюзия правой коронарной артерии приводила к парадоксальному движению МЖП, снижению СД и ударной работы (УР) ЛЖ. После инфузии допамина, несмотря на то, что парадоксальное движение МЖП усугубилось и оставалась дискинезия свободной стенки ПЖ, СД и УР ПЖ повысились. В нашем исследовании сравнительно меньшая степень поражения ПЖ у больных ДКМП приводит к ЛАГ, что согласуется с данными В.Ю.Мареева [1].

Таким образом, функция обоих желудочков находится в прямой взаимозависимости, и у больных ДКМП состояние гемодинамики МКК и ЛАГ могут определяться в основном соотношением степени лево- и правожелудочковых нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мареев В.Ю. Патогенетические механизмы развития рефрактерной сердечной недостаточности и их лечение: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1990.
2. Палеев Н.Р., Одинокова М.А., Гуревич М.А., Найштут Г.М. Миокардиты.— М., 1982.
3. Савченко А.П., Самко А.Н., Наумов В.Г. и др. // Тер. арх.— 1988.— № 7.— С.30—32.

4. Савченко А.П., Самко А.Н., Сметнев А.С., Грудцын Г.В. // Кардиология.— 1986.— № 12.— С.9—11.
5. Самко А.Н., Савченко А.П. // Бюл. Всесоюз. кардиол. науч. центра.— 1989.— № 2.— С.20—24.
6. Brooks H.L., Kirk E.S., Vokonas P.S. et al. // J. Clin. Invest.— 1971.— Vol.5.— P. 2176—2183.
7. Berman J.L., Green L.G., Grossman W. // Am. J. Cardiol.— 1979.— Vol.44.— P. 1263—1276.
8. Cardiomyopathies (Report of WHO Expert Committee).— Geneva, 1984.
9. Dixon J.L., Lewis J.F., Sutton L.L. // J. Am. Coll. Cardiol.— 1991.— Vol.17, № 2.— Suppl.A.— P.220.
10. Goldstein J.A., Tweddel A., Barsilai B. et al. // Ibid.— 1992.— Vol.19.— P.704—711.
11. Goodwin J.F. // Br. Heart J.— 1992.— Vol.48.— P.1—18.
12. Goodwin J.F., Gordon H., Hollman A., Bishop M.B. // Br. Med. J.— 1961.— Vol.1.— P.69—78.
13. Johnson P.A., Palacios I. // N. Engl. J. Med.— 1982.— Vol.307.— P.1051—1119.
14. Janicki J.S. // Circulation.— 1990.— Vol.81, Suppl.3.— P.27—45.
15. Janicki J.S., Weber K.T. // Fed. Proc.— 1978.— Vol.37.— P.776—793.
16. Langile B.L., Jones D.R. // Can. J. Physiol. Pharmacol.— 1977.— Vol.55.— P.373—382.
17. Lorell B.H., Leinbach R.C., Pohost G.M. et al. // Am. J. Cardiol.— 1979.— Vol.43.— P.463—480.
18. Santamore W.P., Lynch P.R., Meier G.M. et al. // J. Appl. Physiol.— 1976.— Vol.41.— P.362—368.
19. Sugishita Y., Kuwako K., Sukuma T. et al. // Jpn. Circ. J.— 1985.— Vol.49.— P.1214.

Поступила 05.05.92.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 612.216.08:612.217

А.Л.Зашихин, Ю.В.Агафонов

ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИИ МЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ВОЗДУХОНОСНЫХ ПУТЕЙ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ ЛЕГКИХ

Кафедра гистологии и эмбриологии Архангельского медицинского института

THE DYNAMICS OF THE POPULATION OF MUSCLE CELLS OF AIRWAYS DURING THE CHANGE OF THE FUNCTIONAL LOAD OF LUNGS

A.L.Zashikhin, Yu.V.Agaphonov

Summary

Smooth muscle cells of the bronchial wall in rats was investigated in the intact tissue and during the development of hypertrophy. Alkaline dissociation method was used. The volume of myocytes and their nuclei number were calculated. The DNA content was studied with the scanning microspectrophotometric analysis.

Statistical characteristics of sample distribution was taken into consideration. Heterogeneity of the myocytes population of bronchial smooth muscle cells was revealed. Three types of myocytes were defined. The transformation dynamics of the population of bronchial smooth muscle cells during the development of functional hypertrophy of lungs was demonstrated.

Резюме

Исследовались клетки гладких мышц бронхиальной стенки легких у крыс на интактной ткани и при развитии гипертрофии. Использовался метод алкалиновой диссоциации. Вычислялся объем самих

миоцитов и число их ядер. Оценивалось также содержание ДНК посредством сканирующего микроспектрофотометрического анализа.

Учитывались статистические особенности выборочного распределения. Была выявлена гетерогенность популяции миоцитов гладких мышц стенки бронхов. Выявлены три типа миоцитов. Была продемонстрирована динамика трансформации популяции клеток гладких мышц бронхов при развитии функциональной гипертрофии.

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что до настоящего времени остаются открытыми вопросы, касающиеся структурной организации и реактивности гладкой мышечной ткани, входящей в состав стенок воздухоносных путей. Ее широкое участие в развитии целого ряда заболеваний дыхательной системы [2,5,9] свидетельствует о необходимости глубокого изучения данного вопроса. В настоящее время изучены основные морфофункциональные закономерности физиологической и репаративной регенерации легких [7]. Тем не менее вопрос об участии гладкой мышечной ткани бронхов в реализации этих процессов остался за рамками интересов исследователей.

Указание на гетероморфизм гладких миоцитов в составе мышечной ткани различных органов встречается в ряде исследований [3,8,11,13]. Точки зрения на оценку фенотипа гладких миоцитов и возможность его модуляции в интактной ткани и при различных функциональных нагрузках крайне разнородны. Целью настоящей работы было проведение структурно-метаболического анализа гладких миоцитов, образующих мышечный компонент стенки мелких бронхов, у интактных животных, а также в условиях повышенной функциональной нагрузки легких.

Работа проведена на беспородных белых лабораторных крысах—самцах. В опыте использовано 35 животных, 10 крыс служили контролем. Модель гиперфункции правого легкого получали путем формирования левостороннего пневмоторакса. Систематические измерения показали, что на противоположной стороне от коллабированного легкого наблюдалось стойкое увеличение объема легочной ткани. Материал забирали на 1,4,7,14, 28-е сутки эксперимента под нембуталовым наркозом. При этом использовали метод случайного отбора образцов в пределах выбранного уровня исследования [1]. Из левого легкого отбирали 15—17 фрагментов бронхов, которые фиксировали при +5°C в растворе 10% формалина на фосфатном буфере при pH=7,4 в течение 6—8 недель. Идентификация мелких бронхов проводилась на основе морфологических критериев с последующей обработкой оригинальным методом прицельной

клеточной диссоциации. Плоидность мышечных ядер определяли после постановки реакции Фельгена цитоспектрофотометрическим методом на сканирующем цитофотометре МФТХ-2М при длине волны 546 нм. Окулярным микрометром измеряли длину и ширину изолированных миоцитов, малый и большой диаметры ядер. Объем рассчитывали по формуле эллипсоида. При анализе цифрового материала вычисляли среднюю арифметическую, дисперсию, коэффициент вариации, асимметрии и эксцесс с их стандартными отклонениями. Обработка результатов проводилась с помощью статистической программной системы *Statgraf, Statistical Graphics, USA*. Степень вероятности отличий (p) измеряемых величин определяли с помощью t -критерия Стьюдента при $p=0,05$.

Одна из задач настоящего исследования состояла в определении четких структурно-метаболических характеристик гладких миоцитов интактной ткани бронхов. Применение метода прицельной клеточной диссоциации позволяет это сделать достаточно корректно и избежать ошибок, возникающих при морфометрическом анализе гладких миоцитов в гистологических срезах. Средние данные, отражающие морфометрические параметры миоцитов стенки бронхов, интегральную оптическую плотность их ядер характеризуют только общие параметры и не дают адекватного представления о структуре описываемой клеточной популяции (табл.1). Известно, что одним из важных показателей, характеризующих гетероморфизм, являются размеры клеток [6]. Изучение распределения гладких миоцитов по объемным характеристикам цитоплазмы свидетельствует, что данный показатель характеризуется наиболее высоким коэффициентом вариации (90,8%). Это также подтверждается положительным показателем эксцесса (+2,6) с учетом его ошибки репрезентативности. Отсутствие значимой корреляционной связи между объемом цитоплазмы миоцитов и другими изучаемыми параметрами позволило выбрать его в качестве основного классифицирующего признака для оценки популяции.

Анализ гистограммы распределения, характеризующей объемные показатели гладких миоцитов, позволил

Таблица 1

Морфометрические и цитометрические показатели гладких миоцитов бронхов

Показатели	$\bar{X} \pm S_x$	G	A	E	V%
Объем миоцита, мкм^3	$3999,26 \pm 247,2$	3633 ± 13	1,66	2,63	90,8
Объем ядра, мкм^3	$160,46 \pm 6,09$	89,5	1,13	1,31	55,8
Оптическая плотность ядра, усл. ед.	$0,44 \pm 0,0095$	0,14	0,71	0,38	31,8

Примечание. Здесь и в табл.2 G — среднее квадратичное отклонение, A — коэффициент асимметрии, E — коэффициент эксцесса, V% — коэффициент вариации, d% — ошибка репрезентативности.

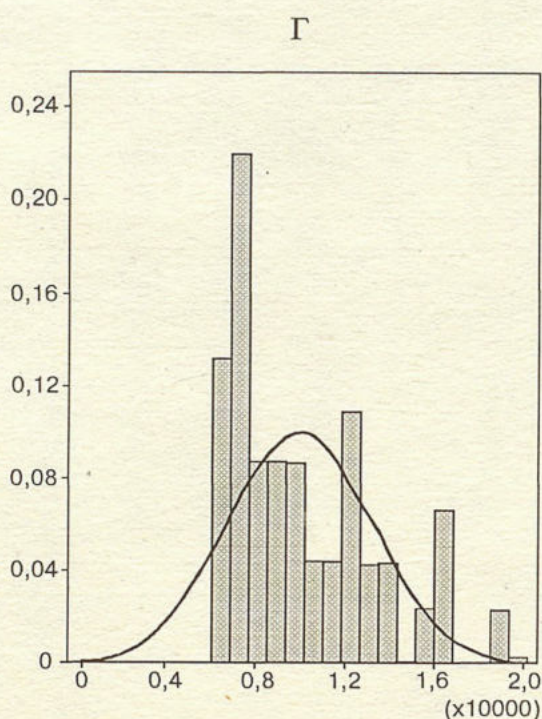
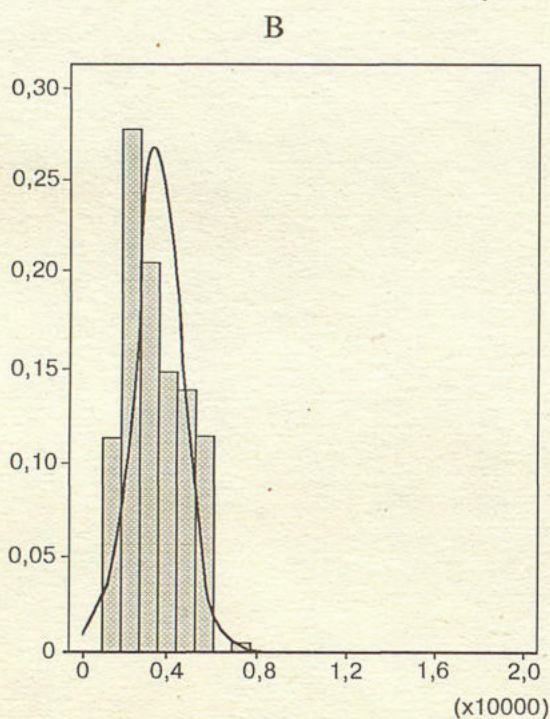
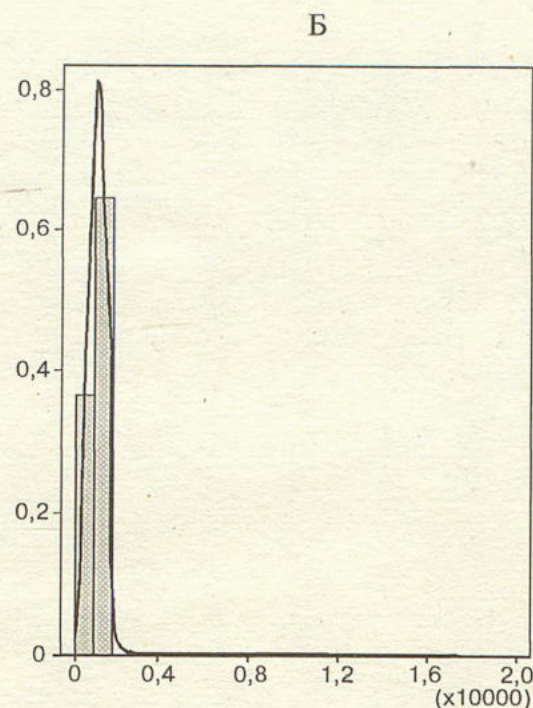
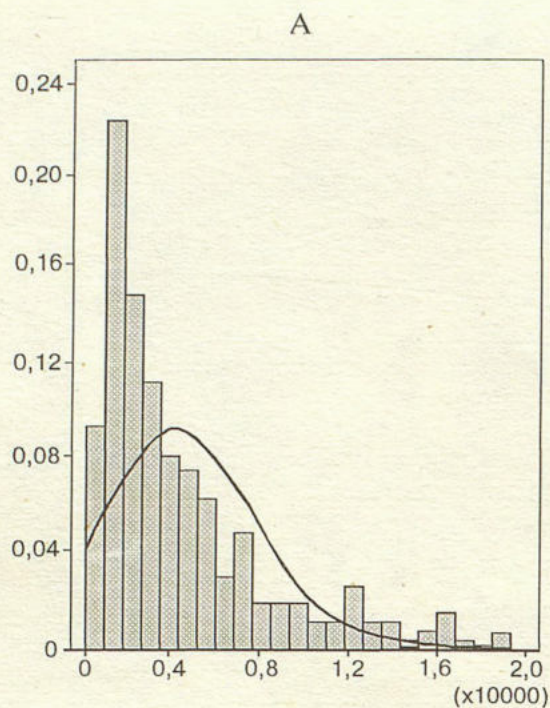


Рис.1. Распределение гладких миоцитов бронхов по объему клетки с выравнивающей кривой нормального распределения. По оси абсцисс — объем миоцитов в куб. мкм; по оси ординат — количество клеток в относительных единицах.

А — вся популяция; Б — группа малых миоцитов; В — группа средних миоцитов; Г — группа больших миоцитов.

выделить три группы клеток с учетом коэффициента вариации, асимметрии и эксцесса в каждой группе (табл.2), значения которых соответствуют параметрам нормального распределения (рис.1). Ошибка репрезентативности в каждой группе не превышала 5%, что свидетельствует о представительности выборок. Процентное соотношение групп миоцитов в популяции в соответствии с выбранными критериями представлено на рис.2.

Анализ оптической плотности ядер (рис.4) свидетельствует о том, что 87,5% клеток относится к диплоидному классу, 5,6% тетраплоидных и у 6,9% количество ДНК соответствует $3n$, что говорит о их нахождении в митотическом цикле. Наибольший процент ДНК-синтезирующих клеток наблюдается в группе малых миоцитов (см. рис.4). Анализ структуры популяции в динамике формирования функциональной гипертрофии

Таблица 2

Объемные показатели в различных группах миоцитов

Группа	Объем миоцита, $\mu\text{м}^3 \bar{X} \pm Sx$	G	A	E	V%	d%
Малые	913,14 ± 40,74	302,12	-0,14	-0,68	33,1	4,5
Средние	3143,4 ± 114,39	1226,67	0,41	-1,03	39,0	3,6
Большие	9829,82 ± 486,6	3300,3	0,9	-0,07	33,6	4,9

легкого представлен в табл.3 и свидетельствует о разнонаправленности реакции клеток различных групп. Наиболее выраженные изменения наблюдались среди малых и больших миоцитов. В эксперименте динамика содержания клеток в этих группах характеризовалась выраженной обратной коррелятивной связью (коэффициент корреляции равен $-0,81$, $p < 0,05$). В процессе развития функциональной гипертрофии легкого в целом наблюдалась активация синтеза ДНК в популяции мышечных клеток на 1-е сутки эксперимента до 17%, постепенное снижение до 3% на 14-е сутки и подъем до 10,7% к концу опыта. Доля активно синтезирующих ДНК клеток в каждой группе приведена в табл.4. Представительство групп миоцитов среди клеток, находящихся в митотическом цикле, в эксперименте существенно менялось (рис.3). Анализ полученных результатов согласуется с данными литературы [3,12], полученными при визуальной оценке структуры гладких миоцитов и свидетельствующими о их гетероморфизме.

Известно, что степень гетероморфности может служить критерием отклонения тканей от исходного состояния, а также мерой нормализации его после нарушений [6].

Таким образом, структурализация популяции гладких миоцитов бронхов, проведенная в настоящей работе, позволила дифференцировать оценку реакции клеточных элементов мускулатуры бронхов на повышенную функциональную нагрузку. В интактной ткани наибольшее количество миоцитов, включающихся в

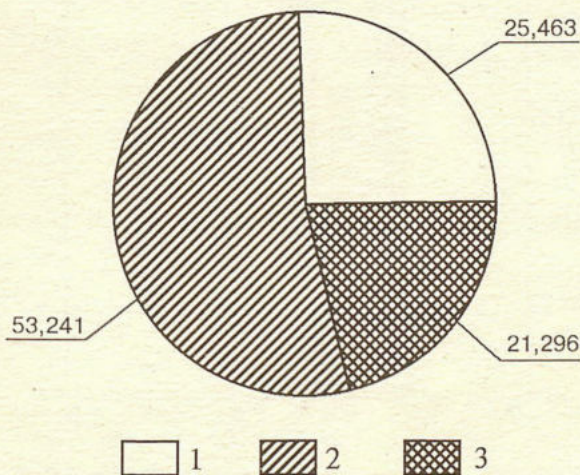


Рис.2. Структура популяции гладких миоцитов бронхов (в%).

1 — группа малых клеток; 2 — группа средних клеток; 3 — группа больших клеток.

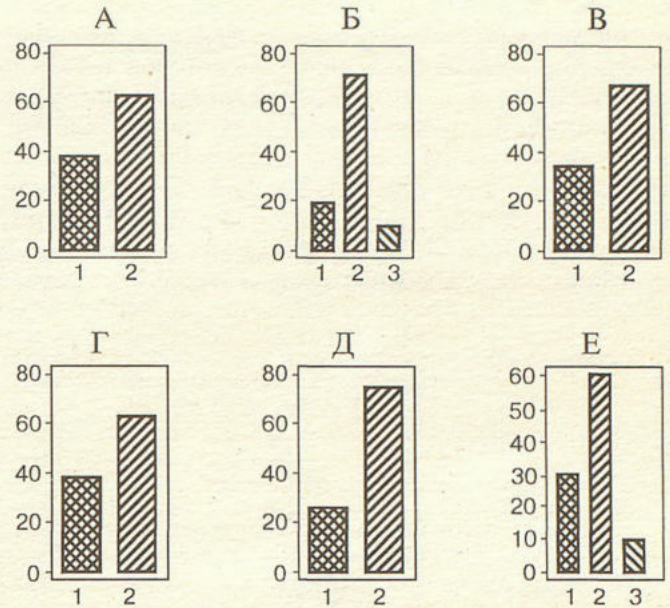


Рис.3. Удельный вес групп среди ДНК-синтезирующих гладких миоцитов бронхов в процессе формирования функциональной гипертрофии легких. По оси абсцисс — группы миоцитов: 1 — малые, 2 — средние, 3 — большие; по оси ординат — удельный вес групп среди ДНК-синтезирующих миоцитов в %. А — контроль; эксперимент: Б — 1 сутки; В — 4 сутки; Г — 7 сутки; Д — 14 сутки; Е — 28 сутки.

синтез ДНК, относится к субпопуляции мелких клеток (10,9%). В группе средних и крупных миоцитов этот показатель составляет соответственно 7,8% и 0%. Процесс активации синтеза ДНК при нагрузке имеет однонаправленный характер, но доля клеток разных групп, вовлеченных в него, существенно различается на протяжении эксперимента.

Наибольшая реактивность отмечается в субпопуляциях мелких и крупных миоцитах. Динамика изменения синтеза ДНК в группе мелких миоцитов согласуется с результатами, полученными при анализе пролиферативной активности клеток межальвеолярных перегородок единственного легкого после пульмонэктомии у крыс [7]. В первые сутки эксперимента среди клеток, имеющих цитотометрические показатели соответствующие $3n$, доля больших клеток составляет 14,3%, а мелких снижается с 40 до 14,3%. Это сопровождается изменением структуры популяции: уменьшением доли

Таблица 3

Структура популяции мышечных клеток бронхов в динамике формирования функциональной гипертрофии легкого

Срок эксперимента	Доля клеток в популяции, %		
	Малые	Средние	Большие
Контроль	25,5	53,2	21,3
1-е сутки	22,0	63,4	14,6
4-е сутки	20,0	58,3	21,7
7-е сутки	29,8	62,8	7,4
14-е сутки	47,8	47,8	4,4
28-е сутки	36,0	52,0	12,0

больших и малых миоцитов — см. табл.3. После 4 суток уменьшается ДНК-синтезирующая активность миоцитов, минимальное значение которой зафиксировано на 14-е сутки. Это сопровождается значительным увеличением представительства малых клеток и уменьшением доли средних и больших. Данный факт можно объяснить задержкой клеток в G2 периоде и соответствующим возрастанием длительности митотического цикла [4] в результате влияния нейрогуморальных факторов, активированных в динамике развития

адаптационного процесса. К 28-м суткам эксперимента уровень ядерного синтеза в малых и средних миоцитах приближается к контрольным показателям, и в цикл вступают большие миоциты. Структура популяции также проявляет тенденцию к возвращению к нормальным показателям — см. табл.3. Полученные результаты соответствуют имеющимся представлениям о возможном существовании в гладкой мышечной ткани субпопуляции миоцитов, различающихся по уровню пролиферативной потенции [4,14].

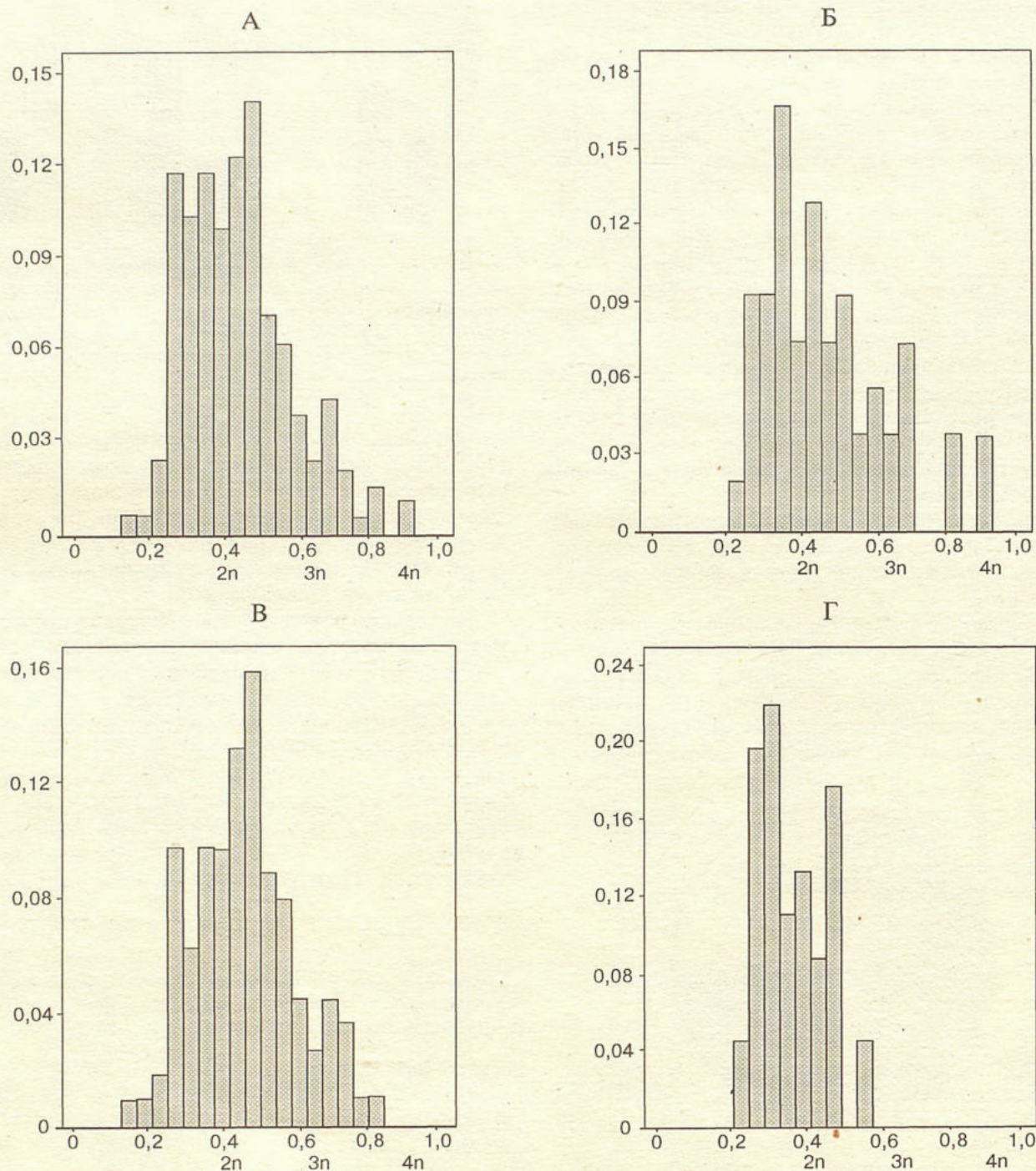


Рис.4. Распределение гладких миоцитов бронхов по плоидности ядер. По оси абсцисс — количество ДНК в единицах плотности; по оси ординат — количество клеток в относительных единицах.

А — вся популяция; Б — группа малых миоцитов; В — группа средних миоцитов; Г — группа больших миоцитов.

Таблица 4

Доля синтезирующих ДНК клеток в группе миоцитов при формировании функциональной гипертрофии

Срок эксперимента	Группы миоцитов, %		
	Малые	Средние	Большие
Контроль	10,9	7,8	—
1-е сутки	11,1	19,2	16,7
4-е сутки	16,7	11,4	—
7-е сутки	7,1	6,75	—
14-е сутки	3,1	3,1	—
28-е сутки	7,4	12,8	11,1

В соответствии с полученными нами данными, группа малых клеток не однородна и сформирована растущими миоцитами, а также камбиальными клетками, имеющими значительный генетивный потенциал. Средняя группа наиболее представительна и стабильна. Она образует основу популяции. Крупные миоциты являются самыми малочисленными, в них не отмечается выраженной полиплоидизации. Эти клетки характеризуются высокой чувствительностью к повреждающим факторам, сохраняют способность к однократному делению и представляют собой терминальное звено в цепи данного миобластического дифферона. Изложенные факты позволяют рассматривать гладкую мышечную ткань бронхов как единый дифферон, в состав которого включены клетки различной специализации. Тесная интеграция миоцитов и динамичность популяции обуславливает высокую пластичность всей системы.

Использованный методический подход и полученные результаты позволяют расширить имеющиеся представления о механизме реактивности гладкой мышечной ткани бронхов. Дальнейшая разработка этого вопроса представляется существенной для расшифровки механизмов и выработки адекватной медикаментозной

коррекции состояний гиперреактивности бронхов в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г., Невзоров В.П., Невзорова О.Ф. Системный стереометрический анализ ультраструктур клеток.— Кишинев: Штиинца, 1984.
2. Адо А.Д., Алексеев В.Г. Проблемы бронхиальной астмы // Клини.мед.— 1986.— № 12.— С.4—8.
3. Бабаев В.Р., Бобрышев Ю.В., Степина Щ.В., Тарарак З.М. Фенотипические варианты ГМК в атеросклерозной бляшке аорты человека // Арх.пат.— 1990.— № 5.— С.16—21.
4. Заварзин А.А. Синтез ДНК и кинетика клеточных популяций в онтогенезе млекопитающих.— Л.: Наука, 1967.
5. Непомнящих Г.И. Патологическая анатомия и ультраструктура бронхов при хроническом воспалении легких.— Новосибирск: Наука, 1979.
6. Катинас Г.С., Рахметов А.С. Размер кардиомиоцитов в разных отделах сердца крысы // Арх. анат.— 1991.— № 10.— С.48—54.
7. Романова Л.К. Особенности структурного обеспечения адаптации и компенсации нарушенных функций. Дыхательная система // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / Под ред. Д.С. Саркисова.— М.: Медицина, 1987.— С.263—284.
8. Фултон А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки.— М.: Наука, 1987.
9. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма.— М.: Медицина, 1985.
10. Campbell J.H., Uehara I., Kocher O., Gabbiani G. Cell biology of smooth muscle in culture. Implication of atherogenesis // Int. Angiol.— 1987.— Vol.6, № 1.— P.73—79.
11. Fuimoto T., Ogawa K. Smooth muscle cells of the chick aortic arch differ from those in the gizzard and the femoral artery in the distribution of F actin, actinin and filamin // Histochemistry.— 1988.— Vol.88, № 3.— P.525—532.
12. Nagy Z., Karenyi T., Voss V., Herrenproth B. Different phenotypes of smooth muscle cells in human arteries // Pathol. Res. Pract.— 1987.— Vol.182, № 4.— P.532—544.
13. Mita M., Uchida M.K. All-or-none response of isolated smooth cells to acetylcholine // J. Pharmacobio-Dyn.— 1987.— Vol.10, № 5.— P.321—334.
14. Thomas W.A., Reiner J.M., Florentin R.A. Population dynamics of arterial smooth muscle cell. Cell proliferation and cell death during initial 3 month in atherosclerotic lesions induced in swine by hypercholesteruic diet and intimal trauma // Exp. Moler. Pathol.— 1976.— Vol.24.— P.360—374.

Поступила 29.04.94.