

А.К. Загорулько, А.Н. Самойлов, В.В. Шаланин
**БРОНХИАЛЬНАЯ АСТМА – ЭПИТЕЛИЙ ТЕРМИНАЛЬНЫХ И
 РЕСПИРАТОРНЫХ БРОНХИОЛ ПРИ СКАНИРУЮЩЕЙ
 ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ**

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского

Ключевые слова: бронхиальная астма, эпителий бронхиол, микроскопия электронная сканирующая.

В этой работе исследован эпителий терминальных и респираторных бронхиол методом сканирующей электронной микроскопии. Материалом для исследования послужили фрагменты легких 14 человек, умерших при бронхиальной астме от её осложнений. Установлено, что постоянно наблюдается картина альтерации реснитчатых клеток с частичной или полной потерей ресничек. Эпителий с отеком, межклеточные контакты расширены. Для всего исследованного материала характерны дегенеративные и дистрофические повреждения цитолеммы эпителиальных клеток, разной степени интенсивности.

**БРОНХІАЛЬНА АСТМА – ЕПІТЕЛІЙ ТЕРМІНАЛЬНИХ ТА РЕСПІРАТОРНИХ БРОНХІОЛ ПРІ СКАНУЮЧІЙ
 ЕЛЕКТРОННІЙ МІКРОСКОПІЇ**

О.К. Загорулько, А.М. Самойлов, В.В. Шаланин

У цій роботі досліджено епітелій термінальних та респіраторних бронхіол методом скануючої електронної мікроскопії. Матеріалом для дослідження були фрагменти легень 14 осіб, померлих при бронхіальній астмі від її ускладнень. Встановлено що постійно була присутня картина альтерації війчастих клітин, з частковою, чи повною втраатою війок. Епітелій був з набряком, міжклітинні контакти розширені. Для всього дослідженого матеріалу було характерним- дегенеративні, та дистрофічні ушкодження цитолемми епітеліальних клітин, з різним ступенем прояву.

Ключові слова: бронхіальна астма, епітелій бронхіол, мікроскопія електронна скануюча.

Патологія. – 2008. – Т5., №4.– С. 38-41

**BRONCHIALASTMA – EPITELIUM OF TERMINAL AND RESPIRATORY BRONCHIOLES IN SCANNING ELEKTRON
 MICROSCOPY**

A.K. Zagorulko, A.N. Samoilov, V.V. Shalanin.

The epithelium of terminal and respiratory bronchioles has been study by scanning elektron microscopy. The sagments of lung of 14 patients died because of bronchial asthma and its complications has been used as material for investigation. It was established that the marke of damage of ciliar cells with partial of complete least of cilia las taken plactas will as the sings of epithelial edema and widening on the intercellular contacts. The degenerative and dystrophic changes of cytolemma of epithelial cells of different degree of density has been characteristic for all material.

Key words: Bronchial asthma, bronchiolar epithelium, scanning elektron microscopy.

Pathologia. 2008; 5(4): 38-41

Спазм бронхиол при бронхиальной астме [БА] значительно влияет на вентиляцию и состояние газообменной функции лёгких. Тканевая гипоксия, возникающая при этом, приводит к стойким изменениям метаболизма в эпителии терминальных [ТБ] и респираторных бронхиол [РБ] [4,6,7,8,9,11].

Эпителий бронхиол контактирует с воздушным потоком и его повреждение при БА приводит к множеству патологических последствий. Состояние клеток эпителия РБ и ТБ зависит от многих факторов: наличия воспаления [6,10], проницаемости клеточных мембран, тонуса мышечных элементов, клеточного состава эпителия, поверхностного натяжения бронхолярного пула сурфактанта, состояния соединительнотканной основы бронхиол, состояния процессов компенсации [5] и декомпенсации, степени развития склероза подлежащих тканей.

Клетки эпителия РБ и ТБ, имеют разное функциональное значение и особенности, потому закономерен интерес в изучении их влияния на морфологию РБ и ТБ при БА. Сканирующая электронная микроскопия [СЭМ] предоставляет возможности для понимания процессов, происходящих в эпителии РБ и ТБ, с точки зрения объемного изображения состояния поверхности мембран клеток и расположенных на них клеточных образований [1,2,3,4]. В данной работе, нас прежде всего интересовали изменения эпителия РБ и ТБ, которые хорошо визуализируются, при относительно небольших увеличениях, отражая динамику процессов на тканевом и клеточном уровнях.

ЦЕЛЬЮ данной РАБОТЫ было – охарактеризовать состояние эпителия РБ и ТБ у больных бронхиальной астмой с использованием СЭМ.

МАТЕРИАЛИ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Материалом для исследования послужили фрагменты легких 14 человек, умерших при БА от её осложнений. Во всех случаях в качестве основного диагноза выступала БА. В качестве контроля использовали ткань лёгких 10 лиц, погибших от причин не связанных с заболеваниями бронхолёгочной и сердечно-сосудистой систем.

Материал для СЭМ брали из участков легких не содержащих крупных сосудов и бронхов. Подготовку материала осуществляли по следующей методике: предфиксационная обработка включала промывку материала фосфатным буфером с рН 7,3 подогретым до 37-38°С. Затем фиксация 1,5% раствором глутарового альдегида на 0,15 М фосфатном буфере при температуре 37-38°С в течение 30 минут с последующей дофиксацией в течение 2,5 часов при комнатной температуре. По окончании фиксации производилась отмывка материала от фиксатора 0,15 М фосфатным буфером, с дополнительной фиксацией материала в течение 45 минут 1,5% раствором четырехоксида осмия на 0,15 М фосфатном буфере. После чего производилась отмывка материала в

дистиллированной воде и проводка в спиртах возрастающей концентрации. Для обезвоживания и высушивания использовался метод «перехода критической точки CO₂». Препараты напыляли золотом в SEM Coating System 508 Evaporation PSU.

Работа по изготовлению препаратов для СЭМ выполнялась в Венском Национальном Госпитале (Вена, Австрия) при поддержке директора Института молекулярной биологии и ультраструктурной патологии клетки Венского Национального Госпиталя профессора Dentscho Kerjaschki при участии доцента Gerhard Dekan, Anne-Lise Nigish и лаборанта Anny Novorka, которым авторы выражают свою благодарность. Материал просматривали и фотографировали в сканирующем электронном микроскопе РЭМ – 106 (Украина) при ускоряющем напряжении 20 кВ и 25 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В ТБ и РБ эпителий цилиндрический, мерцательный, однослойный. В составе эпителия ТБ и РБ имеются реснитчатые клетки [РК], нейроэндокринные клетки, клетки Клара. РК выполняют важнейшую роль в нормальном функционировании мукоциллиарного транспорта и каждая из РК содержит на апикальной поверхности около 200 ресничек, длиной 5–10 мкм, толщиной 0,1–0,2 мкм. Реснички, как правило, имеют небольшой наклон к поверхности эпителия. Постепенно в РБ количество РК уменьшается и ближе к альвеолярным ходам эпителий становится кубическим. Нейроэндокринные клетки располагаются в виде отдельных кластеров, или по одиночке, содержат биологически-активные вещества – кальцитонин, серотонин. Клетки Клара – безреснитчатые, куполообразные, производят гликозаминогликаны, являются источниками сурфактант-ассоциированных белков. Межклеточные контакты в эпителии ТБ и РБ плотные.

Полученные при СЭМ результаты свидетельствуют о том, что в эпителиальных клетках ТБ и РБ при БА имеется ряд существенных изменений. В частности, в первую очередь, обращает на себя внимание тот факт, что реснички большинства РК направлены в разные стороны, имеют неодинаковый угол наклона к апикальной мембране клеток. Кроме того, со стороны многих из них отмечаются признаки фрагментации, укорочения и разрушения, что нередко сопровождается отторжением ресничек в просвет бронхиол. В таких участках апикальная мембрана обнажается и выглядит неровной, с многочисленными дефектами различной формы и размеров, напоминающих кратерообразные углубления. В отдельных клетках, наряду с характерного вида ресничками можно обнаружить цитоплазматические выпячивания, напоминающие микроворсинки, которые по-видимому, образуются на месте отторгнутых в просвет бронхиол ресничек, что можно рассматривать как компенсаторно-приспособительный процесс, направленный не столько на восстановление поврежденной апикальной плазмалеммы, сколько на восстановление ресничек, как компонента механизма мукоциллиарного клиренса бронхиол. (Рис. 1).

Со стороны других эпителиальных клеток (клетки кубического эпителия, куполообразные клетки Клара, и еди-

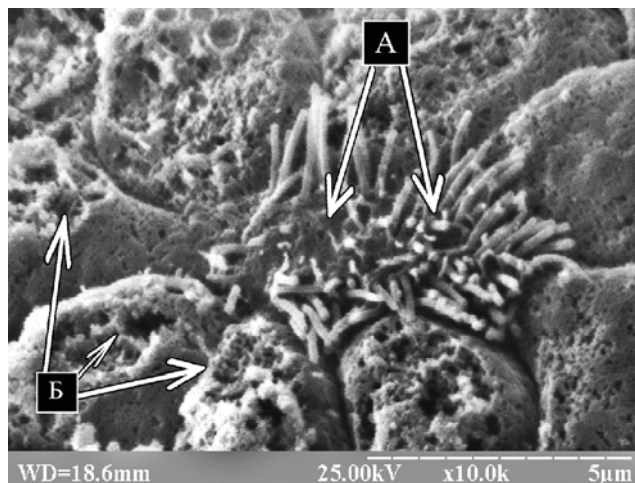


Рис.1. – Респираторная бронхиола. Реснитчатая клетка (А) с частично десквамированными ресничками, в окружении клеток (Б) с грубыми дефектами цитолеммы. СЭМ. Ув.х10000.

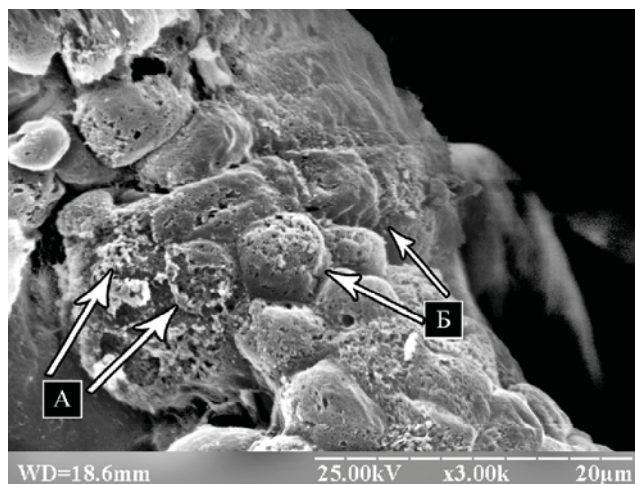


Рис.2. – Респираторная бронхиола. Расширенные межклеточные контакты (Б). Большое количество клеток с выраженными дефектами цитолеммы (А) на поверхности клеток. СЭМ. Ув.х3000.

Почти повсеместно наблюдается разрыхление межклеточных контактов. При этом между соседними клетками образуются многочисленные пространства, разделяющие клеточные мембраны и порой раздвигающие их на значительное расстояние. Однако, такая разрыхленность эпителиального пласта не сопровождается нарушением его целостности. Лишь в отдельных участках удается обнаружить почти полностью разрушенные эпителиальные клетки, десквамированные с базальной мембраны. Такие зоны представляют собой обширные «провалы», на дне кото-

рых обнаруживаются коллагеновые волокна. (Рис. 4.).

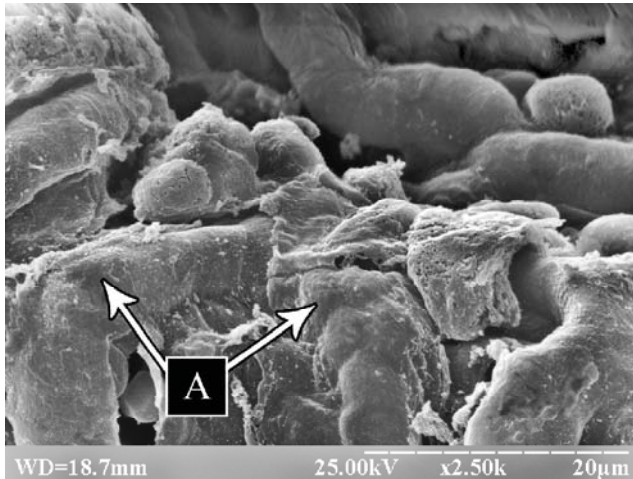


Рис.4. Обнажение базальной мембраны в зоне ветвления респираторной бронхиолы на альвеолярные ходы (А). СЭМ. Ув.х2500.

Весьма характерным является присутствие в просвете бронхиол описываемого порядка комочков слизи и отломков клеточных элементов. Небольшие скопления слизи кое-где обнаруживаются между ресничками РК или апикальной поверхности клеток Клара и клеток кубического эпителия.

Последнее обстоятельство, на наш взгляд, является следствием того, что описанные изменения приводят к грубым нарушениям в системе бронхиолярного клиренса, из-за чего слизь, вырабатываемая бокаловидными клетками более дистально расположенных бронхиального дерева слизь не элиминируется из бронхиол и бронхов, а спускается «ниже», то есть в ТБ и РБ, где слизепroduцирующие клетки отсутствуют. Очевидно, именно нарушением реснитчатого аппарата мерцательного эпителия объясняется и присутствие в просвете ТБ и РБ вовремя не элиминированных за их пределы отломков поврежденных клеток. (Рис. 3.).

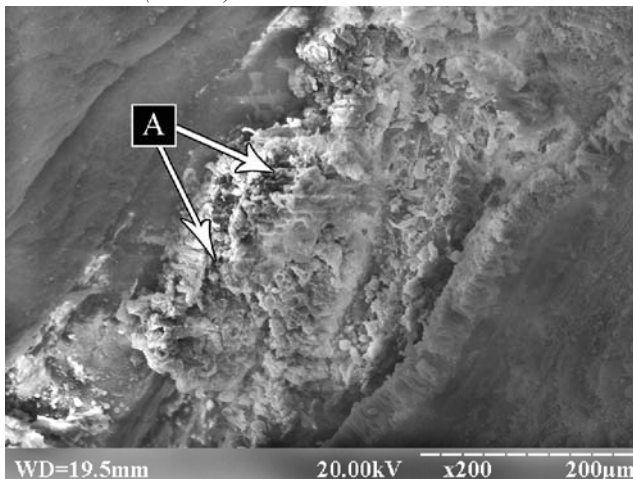


Рис.3. В просвете терминальной бронхиолы в большом количестве клетки десквамированного эпителия (А). СЭМ. Ув.х200.

Нам представляется, что следствием описанных при СЭМ изменений в эпителии ТБ и РБ является, кроме того, затруднение эвакуации «отработанного» сурфактанта легких из респираторного отдела легких, что, в свою оче-

редь, может усиливать гипоксию и, возможно, оказывать влияние как на состояние бронхиолярного просвета, так и на восстановительные процессы в эпителиальных клетках. Можно также сделать предположение, что обнаруживаемые при СЭМ повреждения куполообразных клеток Клара могут привести к нарушению синтеза ими соответствующих сурфактант-ассоциированных белков, что также негативным образом отразится на состоянии пула эндогенного сурфактанта при БА.

Имеющееся при этом ухудшение тканевого и клеточного метаболизма приводит к частичной гибели эпителия, появлению дистрофических и атрофических участков эпителиальной выстилки ТБ и РБ. Это обстоятельство несомненно сказывается на вышесказанной особенно нижележащих участках бронхиального дерева. Это ведет к углублению вентиляционно-перфузионных и метаболических расстройств. Подобные дегенеративные процессы, как правило наблюдаются при многократно повторяющихся приступах у лиц с тяжелым течением БА, когда возможна десквамация эпителия на протяженных участках бронхиол.

Так как эпителиальная выстилка ТБ и РБ более подвержена повреждению, а регенерация ее выражена менее, чем в крупных бронхах, то в участках с нарушенной целостностью эпителия наблюдаются условия, позволяющие антигенным, бактериальным и вирусным агентам легко проникать в ткани бронхиол усиливая процесс иммунизации организма и содействуя поддержанию воспалительного процесса. При БА в эпителии ТБ и РБ имеются очаги деструктивных и атрофических поражений, которые могут в дальнейшем привести к формированию пневмосклероза.

Таким образом, при использовании СЭМ имеется возможность увидеть панорамное изображение апикальных зон клеток эпителия РБ и ТБ с их поверхностно расположенными структурами и оценить их состояние. Анализ полученных результатов показывает, что СЭМ позволяет выявлять даже незначительно выраженные повреждения эпителия РБ и ТБ при БА не визуализирующиеся при других способах исследования. Данное обстоятельство, несомненно, имеет научную и прогностическую ценность в оценке состояния бронхиального дерева и направленности лечебных мероприятий при БА.

ВЫВОДЫ

1. При бронхиальной астме, с использованием СЭМ, в респираторных и терминальных бронхиолах отмечаются дистрофически-атрофические изменения эпителия.

2. Использование СЭМ позволяет выявить даже незначительно выраженную альтерацию как мембран клеток, так и реснитчатого аппарата реснитчатых клеток.

3. Панорамное изображение, получаемое при использовании СЭМ, открывает новые возможности в плане качественной и количественной оценки состояния как эпителия, так и любой другой ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волкова О.В., Шахламов В.А., Миронов А.А. Атлас сканирующей электронной микроскопии клеток, тканей и органов. – М.: Медицина, 1987. – 464с
2. Загоруйко А.К., Аскари Т.А. Атлас ультраструктурной морфологии респираторного отдела лёгких – Симферополь: «СОНАТ», «AZ- PRESS» ЧА «А3», 2002.- 144 с.: ил.

3. Загоруйко А.К. Атлас ультраструктурной морфологии бронхов в норме и патологии. – Симферополь, ИАО КГМУ 2003 -104 с., ил.

4. Комплексная электронно-микроскопическая оценка изменений ультраструктуры эпителия бронхиол при бронхиальной астме в эксперименте. А.К. Загоруйко, Т.А. Аскари, А.А. Загоруйко, А.Н. Самойлов. // Украинский пульмонологический журнал. 2002 №2 с.51- 53.

5. Лукомский Г. И., Шлутко М.Л. Бронхопульмонология. Москва. Медицина, 1982г. с.1-40.

6. Непомнящих Г. И. Патологическая анатомия и ультраструктура бронхов при хроническом воспалении лёгких. г. Новосибирск, Наука Сибирское отделение 1979г. с.20-150.

7. Чучалин А.Г. Тяжёлые формы бронхиальной астмы. // Международный медицинский журнал. – 2000.- №4. – с.11-14.

8. Черняев А. Л., Жаворонков А. А. Патоморфологическая и морфометрическая диагностика бронхоспастического синдрома при хроническом диффузном бронхите и бронхиальной астме. Архив патологии М. 1981 Т. 43 вып.3, с.60- 66. 9. Чучалин А. Г. Бронхиальная астма в 2-х т. Москва «Агар» 1997-1998г. Т 1. с.1-50.

10. Roche W.R. // Inflammatory and structural changes in the small Airways in Bronchial Asthma – American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine. - Vol 157. pp.S –191 – S194. 1998.

11. Velden V. H., Versnel H.F Bronchial epithelium: morphology, function and pathophysiology in asthma. // Eur. Cytokine Netw.- 1998.- Dec. 9 (4).- P. 585- 597

УДК 615.211:615.212.2

И.В. Киреев, Б.А. Самура

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ КСАНТИНА НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Ключевые слова: производные ксантина, биоэлектрическая активность мозга, вызванные потенциалы.

В работе представлены исследования влияния производных ксантина на биоэлектрическую активность головного мозга. Установлено, что 3-метил-7-гептил-8-пиперидиноаминоксантин (соед. 37) вызывает десинхронизацию ритма биоэлектрической активности головного мозга, увеличение в 1,5-2 раза амплитуды корковых ветвей анализаторов соматосенсорной, висцеральной и слуховой зон, проявляя психостимулирующий эффект. Соединение 60 вызывает урежение тета ритма и увеличение амплитуды медленно волновой активности.

ВПЛИВ ПОХІДНИХ КСАНТИНУ НА БІОЕЛЕКТРИЧНУ АКТИВНІСТЬ КОРИ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

І.В. Кіреєв, Б.А. Самура

В роботі представлені дослідження впливу похідних ксантину на біоелектричну активність головного мозку. Встановлено, 3-метил-7-гептил-8-пиперидиноаминоксантин (з'єд. 37) викликає десинхронізацію ритму біоелектричної активності головного мозку, збільшує в 1,5-2 рази амплітуду коркових віпоїдей аналізаторів соматосенсорної, вісцеральної та слухової зон, виявляючи психостимулюючий ефект. Сполука 60 викликає зрідження тета ритму та збільшення амплітуди повільнохвильових коливань.

Ключові слова: похідні ксантину, біоелектрична активність мозку, викликані потенціали.

Патологія. – 2008. – Т5., №4. – С. 41-43

INFLUENCE XANTHINE DERIVATIVES ON BIOELECTRICAL ACTIVITY IN CORTEX OF LARGE HEMISPHERES OF A HEAD BRAIN

I. V. Kireev, B. A. Samura

In this work the researches of influence xanthine derivatives on bioelectrical activity of a head brain are represented. Is established, what 3-methyl-7-heptyl-8-piperidinoaminoxanthine (compound 37) causes desynchronization of a rhythm of bioelectrical activity in head brain, increase in 1,5-2 times of amplitude cortical response in analyzers for somatosensory, visceral and acoustical zones and show psychostimulant effect. The connection 60 causes for decrease teta-rhythm and increase of amplitude slowly-undulatory activity.

Key words: xanthine derivatives, bioelectrical activity of a brain, caused poten-tials.

Pathologia. 2008; 5(4): 41-43

Важной проблемой современной фармакологической науки является поиск новых более активных и безопасных лекарственных препаратов для фармакологической коррекции нарушений функционального состояния центральной нервной системы. В создании новых нейротропных средств основное значение принадлежит направленному синтезу новых веществ, используя принцип комплементарности структур лекарственного вещества и рецептора [8, 10, 12, 15].

В этом плане наше внимание привлекли ксантиновые производные которые имеют важное теоретическое и практическое значение. Известно, что пуриновые нуклеотиды и нуклеозиды оказывают выраженное внеклеточное действие на возбудимые мембраны и могут участвовать в физиологических регуляторных процессах функционального состояния центральной нервной системы [2, 9, 11, 14]. Ранее было установлено, что 7,8-дизамещенные производные 3-метилксантина обладают низкой токсичностью, нейролептической, диуретической и антиаритмической активностями [3, 4, 5, 6, 13].

ЦЕЛЮ исследования явилось изучение влияния новых синтетических производных ксантина на биоэлектрическую активность головного мозга.

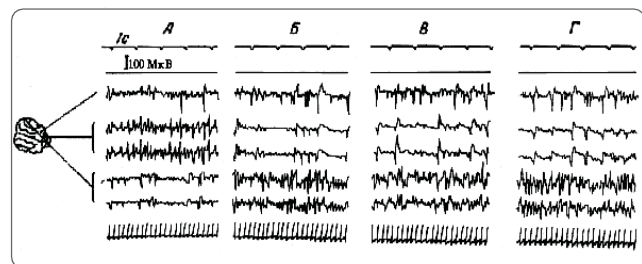


Рис. 1. – Изменение фоновой биоэлектрической активности коры больших полушарий головного мозга кошки под влиянием соединения 122.

Сверху вниз: отметка времени 1 с; зона висцеральной проекции (2 кривые); слуховая зона (2 кривые); электрокардиограмма. А – запись до введения соединения; Б – Г – соответственно через 5, 15 и 30 минут после введения соединения 37 в дозе 4,6 мг/кг внутривенно.