

## УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЁГКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛИРОВАННЫМ КОМПРЕССИОННЫМ СИНДРОМОМ

В. В. Бойко, И. В. Белозёров, О. Ф. Невзорова, И. А. Тарабан,  
А. Г. Краснояружский, В. П. Невзоров, В. Ф. Омельченко  
ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины», г. Харьков, Украина

**В** клетках легких под воздействием моделированного компрессионного синдрома выявило развитие митохондриальной дисфункции, снижение активности биосинтетических и репаративных процессов на субклеточном уровне. На ультраструктурном уровне развиваются катаболические процессы, что косвенно подтверждается появлением в цитоплазме клеток вторичных лизосом. Компрессионный синдром вызывает нарушение сурфактантной системы легких, что структурно подтверждается деструкцией осмиофильных пластинчатых телец в цитоплазме альвеолоцитов II типа и уменьшением их количества.

Установлено, что изменения субмикроскопической организации клеток легких по своей глубине и степени выраженности лежат в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми после снятия негативного фактора.

**Ключевые слова:** компрессионный синдром, ультраструктура легких, митохондриальная дисфункция, сурфактантная система легких.

**Вступление.** По данным ВОЗ новообразования средостения составляют 2–3 % в структуре онкологических заболеваний [2, 4, 5]. За последние 20 лет отмечается увеличение количества опухолей средостения почти вдвое [4]. Экспериментальными исследованиями показано, что лёгкие, наряду с выполнением газообменной функции, являются источником кофакторов свертывания и антисвертывания крови, поддерживающих постоянство реологических свойств крови. Это орган, обладающий мощной фибринолитической системой, очищает кровь от сгустков фибрина и микроэмболов [1, 6]. Компрессионный синдром, вызванный наличием новообразования средо-

стения, существенным образом сказывается на развитии дыхательной недостаточности. Локализация и размер опухоли обуславливают степень тяжести тех или иных патологических состояний в респираторном отделе лёгких.

Нарушения микроциркуляции и проницаемости аэрогематического барьера лёгких является фоном для развития синдрома внутрисосудистого свертывания крови [6, 7].

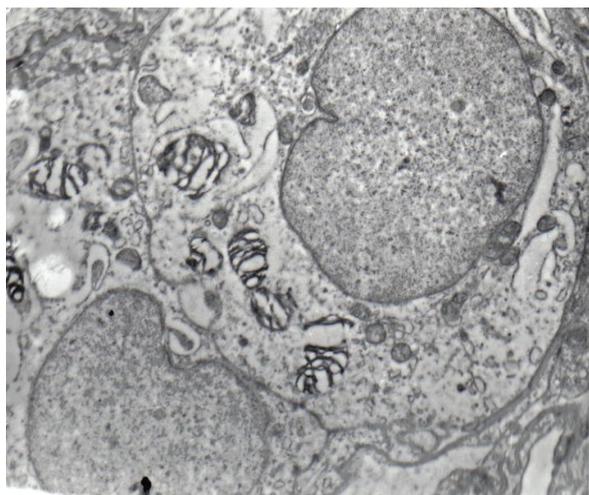
До настоящего времени нет всесторонних и углубленных исследований кислородного режима организма, что напрямую связано с нарушением субмикроскопической организации клеток респираторного отдела и сурфактантной системы легких.

**Цель исследования:** выявить особенности ультраструктурных изменений клеток респираторного отдела лёгких в условиях моделирования компрессионного синдрома средостения.

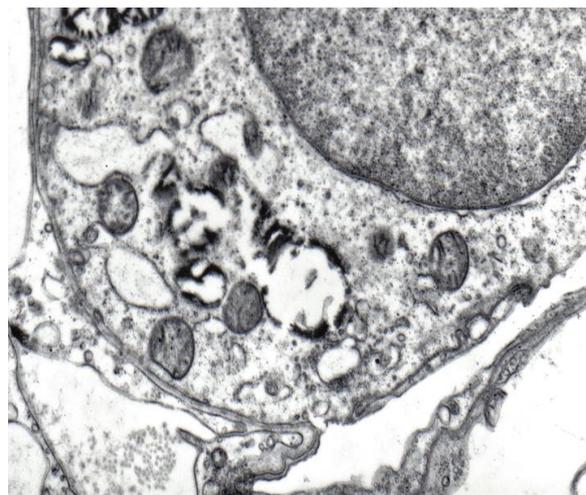
**Материал и методы исследования.** Эксперимент выполняли на кролях породы Шиншилла, которым моделировали компрессионный синдром средостения следующим способом.

После предоперационной подготовки, под кетаминным наркозом, в среднее средостение вводили катетер типа Фогарти, баллон которого раздували введением 76 % раствора триомбраста под контролем рентгеноскопии. Дистальный конец катетера погружали в подочно-жировую клетчатку.

Методы экспериментальной работы с животными соответствовали общепринятым нормам и правилам, предусмотренным «Европейской конвенцией по надзору и защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1986), Директивой Совета Евро-



**Рис. 1.** Вакуолизация цистерн гранулярной эндоплазматической сети альвеолоцитов II типа.  
×34 000



**Рис. 2.** Деструкция осмиофильных пластинчатых телец в цитоплазме альвеолоцитов II типа.  
×39 000

пейского Содружества от 24. 11. 86 г. и распоряжением МЗ Украины № 32 от 22. 02. 88 г.

Для электронно-микроскопического исследования производили забор кусочков ткани лёгкого, которые для предварительной фиксации помещали в 2,5 %-ный забуференный раствор глутарового альдегида на 5–6 часов при температуре 4 °С. После промывки в буферном растворе, ткань переносили для окончательной фиксации в 1 %-ный забуференный раствор четырехоксида осмия на 3–4 часа при температуре 4 °С. Ткань обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон – аралдит) по общепринятым методам. Полимеризацию блоков осуществляли в термостате при температуре 60 °С в течении двух суток.

Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП – 3М, изготавливали ультратонкие срезы, которые, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭВМ – 100 БР при ускоряющем напряжении 75 кв. Контролем качества гистологической обработки служили кусочки паренхимы лёгких интактных животных.

**Результаты исследования и их обсуждения.** Исследование субмикроскопической организации клеток респираторного отдела легких интактных животных показало удовлетворительную гистологическую обработку, и отсутствие повреждений органелл.

В условиях компрессионного синдрома в клетках респираторного отдела легких развиваются дистрофические процессы, с элементами деструкции внутриклеточных органелл и

мембран. Ядерная мембрана альвеолоцитов II типа образовывала мелкие инвагинации. Перинуклеарные пространства расширены. Ядерная мембрана умеренно разрыхлена. В некоторых альвеолоцитах II типа наблюдались очаги лизиса ядерной мембраны. Конденсированный хроматин в виде осмиофильных глыбок равномерно распределен по матриксу ядра.

Митохондрии альвеолоцитов II типа мелкие, округлой формы с мелко гранулярным матриксом. Небольшое количество крист располагалось перпендикулярно длине оси митохондрий. Митохондриальные мембраны были разрыхлены и содержали очаги деструкции. Встречались митохондрии, содержащие электронно-прозрачный матрикс и разрушенные кристы.

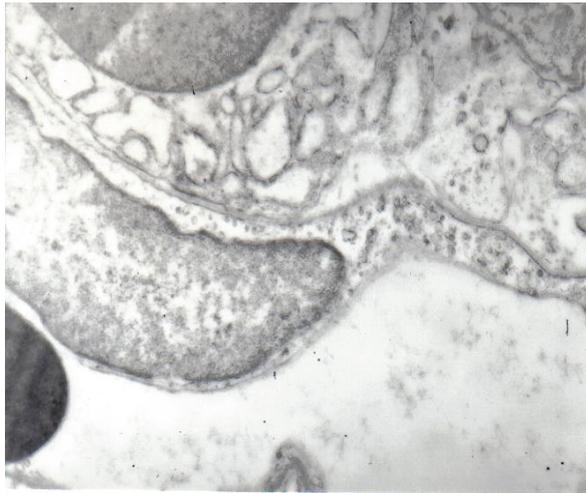
Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума сильно расширены, имели вид электронно-прозрачных вакуолей (рис. 1).

В цитоплазме выявлялось небольшое количество осмиофильных пластинчатых телец с очагово разрушенными мембранами. В отдельных альвеолоцитах II типа выявлялись миелоноподобные структуры (рис. 2).

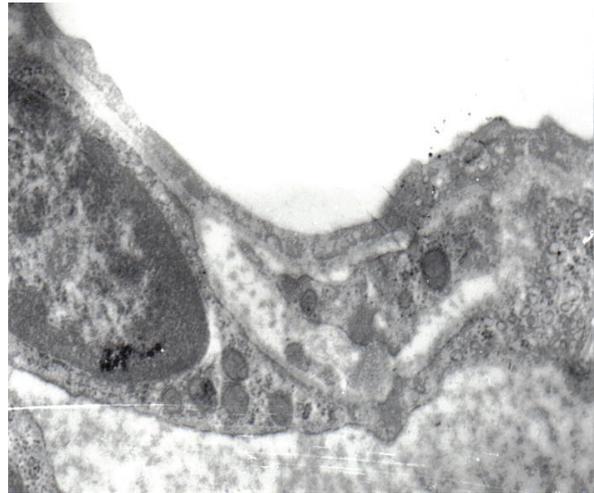
Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи подвержен редукции и представлен в виде скоплений, хаотично ориентированных гладких мембран, окруженных единичными крупными электронно-прозрачными вакуолями.

Цитоплазматическая мембрана, обращенная в просвет альвеолы, теряла четко контурированную структуру, разрыхлялась. В ней обнаруживались локальные очаги лизиса.

В результате воздействия компрессионного



**Рис. 3.** Очаговый лизис ядерной и цитоплазматической мембран эндотелиоцитов кровеносных капилляров.  $\times 46\ 000$ .



**Рис. 4.** Расширение базальных мембран альвеолоцитов I типа и эндотелиоцитов в области аэрогематического барьера.  $\times 50\ 000$ .

синдрома развиваются выраженные дистрофические и деструктивные нарушения ультраструктурной организации альвеолоцитов I типа. Ядра альвеолоцитов I типа приобретали неправильную форму, терялась четко контурированная структура ядерной мембраны. Наблюдаются мелкие инвагинации ядерной мембраны. Хроматин ядра переходит в конденсированное состояние. Митохондрии содержали лизированные наружные мембраны и кристы.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи подвергается умеренной редукции. В цитоплазме под воздействием компрессионного синдрома уменьшается количество рибосом и полисом по сравнению с группой интактных экспериментальных животных. Митохондрии альвеолоцитов I типа набухшие, наружная мембрана их разрыхлена и осмиофильна. Кристы митохондрий дезорганизованы. Гранулярный эндоплазматический ретикулум развит слабо, его цистерны расширены, и имеют вид электронно-прозрачных везикул, а мембраны подвержены мелкоочаговому лизису.

В цитоплазме отростков альвеолоцитов I типа и эндотелиоцитов кровеносных капилляров, формирующих аэрогематический барьер, практически отсутствовали микропиноцитозные пузырьки. В просвете альвеол присутствовали фрагменты цитоплазматических мембран и органелл, а также аморфная осмиофильная субстанция, состоящая из разрушенного сурфактанта и осмиофильного аморфного вещества.

Ядра эндотелиальных клеток кровеносных

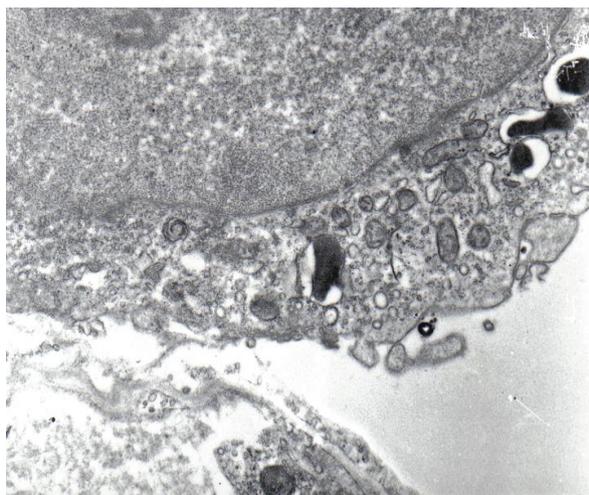
капилляров (рис. 3) имели неправильную форму. Ядерная мембрана была разрыхленной и образовывала множественные, довольно глубокие, инвагинации. Нередко встречались очаги лизиса ядерной мембраны. В матриксе ядра находился преимущественно конденсированный хроматин. Перинуклеарное пространство неравномерно расширено.

В цитоплазме эндотелиальных клеток находилось небольшое количество сильно набухших митохондрий с электронно-прозрачным матриксом. Наружная мембрана митохондрий, разрыхленная с очагами лизиса. Кристы митохондрий дезорганизованы. Гранулярный эндоплазматический ретикулум представлен электронно-прозрачными вакуолями. В просвете капилляров, кроме клеточных элементов крови, обнаруживались скопления аморфной субстанции липопротеидной природы.

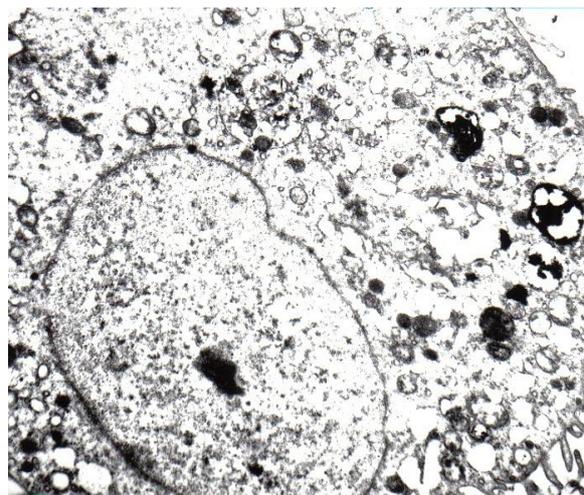
Базальные мембраны эндотелиоцитов кровеносных капилляров и альвеолоцитов I типа в области аэрогематического барьера имели неравномерную ширину и различную электронную плотность (рис. 4).

Альвеолярные макрофаги (рис. 5) находились в метаболически активном состоянии. Ядра их сохраняли типичную форму, размеры и локализацию в цитоплазме. Иногда их ядерная мембрана образовывала множественные мелкие инвагинации. Перинуклеарные пространства узкие. В матриксе ядра локализовались равномерно распределенные гранулы деконденсированного хроматина и многочисленные рибосомы.

В перинуклеарной области цитоплазмы



**Рис. 5.** Скопления рибосом и полисом в цитоплазме альвеолярных макрофагов.  $\times 37000$ .



**Рис. 6.** Вторичные лизосомы в цитоплазме и лизис внутриклеточных мембран и органелл в десквамированных альвеолоцитах II типа.  $\times 36000$ .

альвеолярных макрофагов, выявлялись многочисленные митохондрии с большим количеством крист. Матрикс митохондрий имел мелкозернистую структуру и среднюю электронную плотность. Гранулярный эндоплазматический ретикулум развит хорошо, однако его цистерны сильно расширены. Количество, как свободно лежащих в цитоплазме рибосом и полисом, так и рибосом связанных с мембранами эндоплазматической сети достаточно велико.

В цитоплазме альвеолярных макрофагов присутствовало большое количество фагоцитированного материала, различной электронной плотности. В структуре фагоцитированного материала, выявлялись дегенеративно измененные мембранные структуры и аморфное вещество различной электронной плотности.

В просвете альвеолы зачастую обнаруживались десквамированные альвеолоциты II типа, в цитоплазме которых находились дегенеративно измененные органеллы, подверженные тотальному лизису. В десквамированных альвеолоцитах II типа находились многочисленные вторичные лизосомы и мелкие включения липидов. Цитоплазматическая мембрана зачастую была очагово разрушена и сильно разрыхлена (рис. 6).

**Заключение.** Проведенное электронно-микроскопическое исследование субмикроскопических изменений органелл клеток лёгких, выявило наличие дистрофических и деструктивных нарушений, возникающих под воздействием моделированного компрессионного синдрома.

Общим для всех изученных клеток является развитие митохондриальной дисфункции, структурным выражением которой следует считать набухание митохондрий, уменьшение количества крист, а также очаговый лизис наружной мембраны и крист. Эти нарушения свидетельствуют о том, что компрессионный синдром существенным образом нарушает внутриклеточную биоэнергетику, вызывает нарушения биосинтетических и репаративных процессов на субклеточном уровне.

Возникшая под воздействием компрессионного синдрома митохондриальная дисфункция влечет за собой дистрофические процессы, касающиеся метаболизма клеток, как открытых биологических систем. В них снижается активность синтеза белка, что структурно проявляется расширением цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, очаговым лизисом его мембран, а также уменьшении количества, как связанных с его мембранами рибосом, так и свободно лежащих в цитоплазме рибосом и полисом.

В клетках респираторного отдела легких, под воздействием компрессионного синдрома развиваются катаболические процессы, что косвенно подтверждается появлением в цитоплазме клеток вторичных лизосом. Выявленные разрыхления внутриклеточных мембран, таких как ядерная мембрана, мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума, наружные мембраны и кристы митохондрий указывают на нарушение липидного обмена. Это структурно подтверждается и появлением в цитоплазме клеток включений липидов.

Следует отметить, что описанные изменения ультраструктурной организации клеток легких при моделированном компрессионном синдроме лежат в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми после устранения причин вызывающих компрессионный синдром.

**Выводы.** 1. Компрессионный синдром сопровождается развитием митохондриальной дисфункции во всех клетках респираторного отдела легких.

2. Выявленные изменения субмикроскопической организации клеток легких по своей глубине и степени выраженности лежат в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми после снятия негативного фактора.

3. Компрессионный синдром вызывает нарушение сурфактантной системы легких, что структурно подтверждается деструкцией осмиофильных пластинчатых телец в цитоплазме альвеолоцитов II типа и уменьшением их количества.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев В. Б. Физиология гемостаза / В. Б. Воробьев. – Ростов-на-Дону: Издательский дом «Проф-Пресс», 2004. – 192 с.

2. Давыдов М. И. Критерии выбора объема резекции соседних органов (структур) у больных раком легкого / М. И. Давыдов, А. И. Пирогов, Р. О. Гагуа // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 1993. – № 2. – С. 38–41.

3. Острая массивная кровопотеря / А. И. Воробьев, В. М. Городецкий, Е. М. Шулушко, С. А. Васильев. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 125 с.

4. Пелюховский С. В. Применение медиастиноскопии в диагностике хирургических заболеваний органов грудной полости / С. В. Пелюховский // Клінічна хірургія. – 2002. – № 1.

– С. 58–59.

5. Самратов Д. У. Возможности комплекса физических факторов в хирургии опухолей трахеи, легких и средостения / Д. У. Самратов // Вопр. онкологии. – 1995 – Т.41, №2. – С. 144.

6. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. The seventh ACCP Conference on antithrombotic and thrombolytic therapy / Buller HR [et al.] // Chest. – 2004. – № 126/3. – S. 401–428.

7. Primary intrapulmonary thymoma successfully resected with vascular reconstruction / H. Ishibashi, S. Takahashi, H. Tomoko // Ann. Thorac. Surg. – 2003. – Vol.76, №5. – P. 1735–1737.

В. В. Бойко, І. В. Белозьоров, О. Ф. Невзорова,  
І. А. Тарабан, А. Г. Краснояружський,  
В. П. Невзоров, В. Ф. Омельченко

## УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛІТИН РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН З МОДЕЛЬОВАНИМ КОМПРЕСІЙНИМ СИНДРОМОМ

м. Харків, Україна

**Резюме.** В клітинах легень під впливом модельованого компресійного синдрому виявлено розвиток митохондриальної дисфункції, зниження активності біосинтетичних та репаративних процесів на субклітинному рівні. На ультраструктурному рівні розвиваються катаболічні процеси, що непрямо підтверджується появою в цитоплазмі клітин вторинних лізосом. Компресійний синдром викликає порушення сурфактантної системи легень, що структурно підтверджується деструкцією осміофільних пластинчатих тілець в цитоплазмі альвеолоцитів II типу і зменшенням їх кількості.

V. V. Boiko, I. V. Belozerov, O. F. Nevzorova,  
I. A. Taraban, A. G. Krasnoyruzshsky,  
V. P. Nevzorov, V. F. Omelchenko

## THE ULTRASTRUCTURE OF CELLS OF THE RESPIRATORY PART OF LUNGS OF EXPERIMENTAL ANIMALS WITH MODELED COMPRESSION SYNDROME

Kharkiv, Ukraine

**Summary.** In the cells of the lungs under the influence of modeled compression syndrome has revealed the development of mitochondrial dysfunction, decreased activity of biosynthetic and repair processes at the subcellular level. At the ultrastructural level catabolic processes are developed, which is indirectly confirmed by the appearance in the cytoplasm of cells of the secondary lysosomes. Compression syndrome leads to the damage of lung surfactant system that structurally supported by destruction of osmiophilic lamellar bodies in the cytoplasm type II pneumocytes and a decrease in their number. It is

кості. Встановлено, що зміни субмікроскопічної організації клітин легень по своїй глибині та ступеню виразності лежать в межах фізіологічної компенсації та являються зворотними після зняття негативного фактору.

**Ключові слова:** компресійним синдром, ультраструктура легень, мітохондріальна дисфункція, сурфактантна система легень.

established that the changes submicroscopic organization of lung cells in its depth and severity are in the range of physiological compensation and are reversible after removal of negative factors.

**Key words:** compression syndrome, lung ultrastructure, mitochondrial dysfunction, pulmonary surfactant system