

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОЗДУХОНОСНОМ ОТДЕЛЕ ЛЕГКИХ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХОЛОДНОГО ВОЗДУХА

С.С.Целуйко¹, Н.П.Красавина¹, Д.А.Семенов¹, С.Д.Чжоу², Ц.Ли²¹Амурская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития РФ, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95²Вторая госпитальная клиника Чунцинского медицинского университета, КНР, 400010, г. Чунцин, ул. Линьцзян, 76

РЕЗЮМЕ

Цель исследования заключалась в гистохимической характеристике углеводных соединений в воздухоносном отделе крыс под действием холодного воздуха. Экспериментальное исследование проведено на 100 белых крысах-самцах, охлаждение которых проводили в климатической камере при температуре -15°C однократно и в течение 15 и 30 дней по 3 часа ежедневно. Установлено, что при холодовом воздействии резко возрастает активность секретиции муцинов бокаловидными клетками эпителия и в меньшей степени – железами подслизистой основы трахей и бронхов, что приводит к нарушению фибриллярной структуры гелеобразного слоя слизи на поверхности воздухоносного отдела легких. При длительном холодовом воздействии в легких развивается комплекс специфических изменений мукополисахаридного обмена с преобладанием кислых мукополисахаридов и гликозаминогликанов в тех участках слизистой оболочки, где появлялись изменения в структуре эпителия. Это происходит за счет активного внедрения в структуру базальной мембраны клеточных элементов, мигрирующих из соединительной ткани. Накопление гликозаминогликанов в межклеточном веществе рыхлой соединительной ткани и стенке кровеносных сосудов служит своеобразным индуктором, обеспечивающим образование волокнистых структур. При длительном охлаждении, вслед за возникающим повышением катаболизма в соединительной ткани, разрушением коллагена и клеток, образующиеся продукты их распада стимулируют активацию анаболических процессов всех её компонентов. Таким образом, при длительном холодовом воздействии в воздухоносном отделе легких развивается комплекс нарушений углеводного обмена, обуславливающих длительное течение воспалительного процесса в слизистой оболочке трахей и бронхов и приводящих к развитию склеротических изменений в соединительной ткани.

Ключевые слова: нейтральные мукополисахариды и гликозаминогликаны, воздухоносный отдел легких, покровный эпителий и железы трахеи, холодное воздействие.

SUMMARY

HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF CARBOHYDRATE COMPOUNDS IN THE

AIRWAY OF RATS LUNGS UNDER EXPOSURE TO COLD

S.S.Tseluyko¹, N.P.Krasavina¹, D.A.Semenov¹, X.D.Zhou², Q.Li²¹Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation²The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 76 Linjiang Road, Chongqing, 400010, China.

The aim of the research was to present the histochemical characteristic of carbohydrate compounds in the airway of rats lungs under exposure to cold. The experiment was conducted over 100 white male rats whose cooling was done in the climatic camera at the temperature -15°C once and during 15 and 30 days for three hours daily. It was found out that during cold exposure the activity of mucin secretion by goblet cells of epithelium dramatically increases and to a lesser extent it increases by glands of trachea and bronchial tubes submucosa, which leads to the disruption of fibrillar structure of the mucus gel layer on the surface of the lungs airway. With prolonged exposure to cold a complex of specific changes of mucopolysaccharide exchange develops in lungs dominated by acidic mucopolysaccharides and glycosaminoglycans in those parts of the mucous membrane where there are changes in the structure of epithelium. This is due to the active implementation of cell elements, migrating from the connective tissue, into the structure of the basement membrane. The accumulation of glycosaminoglycans in the intercellular substance of loose connective tissue and blood vessel wall serves as an inductor providing the formation of fibrous structures. With long-term cooling, followed by an excess of connective tissue catabolism, collagen and cells destruction, their degradation products stimulate the activation of anabolic processes of all its components. Thus, prolonged exposure of lungs airway to cold results in the development of a complex of carbohydrate metabolism disorders causing prolonged inflammation in trachea and bronchi mucous tunic and leading to the development of sclerotic changes in the connective tissue.

Key words: neutral mucopolysaccharides and glycosaminoglycans lungs airway, surface epithelium and glands of trachea, cold exposure.

Секреторные гликопротеины бронхиального секрета являются основным компонентом, определяющим

регуляцию концентрации воды и ионов, создавая оптимальные условия для продвижения слизи и обезвреживания микроорганизмов с участием клеточных и неклеточных факторов защиты. При избыточной вязкости бронхиального секрета происходит его задержка в дистальных отделах бронхов, закупорка бронхиол слизистыми пробками и развитие инфекции. При чрезмерно жидком секрете нарушается его сцепление с ресничками, что также ведет к нарушению эвакуации содержимого бронхов [1, 7, 14]. Вероятно, большую роль в обеспечении движения слизистого покрытия вдоль поверхности эпителия слизистой играет степень вязкости секрета, химический состав и его взаимодействие с ресничками [1, 4]. Из углеводных соединений гистохимическими методами выявляются лишь те, которые при фиксации остаются в составе структур, не вымываются и не диффундируют. В их числе оказываются высокомолекулярные биополимеры, построенные из гексоз и их производных, и вещества с более низким молекулярным весом типа олигосахаридов, но прочно связанные с белком в единый комплекс. Полисахариды представляют собой разветвленные или неразветвленные линейные полимеры, построенные из гексоз (глюкозы, галактозы, маннозы и др.) и их производных (глюкозамина, галактозамина, глюкуроновой и идуроновой кислот и др.). До сих пор отсутствует общепринятая классификация этих соединений. Биохимики и гистохимики часто используют различные термины для обозначения одних и тех же соединений. Известно как минимум 19 генов, отвечающих за синтез муцинов – MUC1, MUC2, MUC3A, MUC3B, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC12, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17, MUC19 и MUC20. Секретируемые слизистой и подслизистой оболочками трахеи и бронхов муцины (MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8) вносят свой вклад в обеспечение вязкостно-эластических свойств бронхиального секрета [13, 14]. Для практики гистохимических исследований наиболее приемлемо разделение всех полисахаридов на 3 группы: 1) собственно полисахариды (или гликополисахариды), состоящие из одинаковых гексоз (например, глюкозы), из полисахаридов в тканях животных встречается только гликоген; 2) нейтральные мукополисахариды, состоящие из различных гексоз и их amino-производных, они входят в состав мукопротеидов в несвязанном виде в тканях животных не содержатся; 3) кислые мукополисахариды (или гликозаминогликаны), содержат в своем составе гексозамины, гексуроновые кислоты и остатки серной кислоты, соединенные с молекулой гликозаминогликанов эфирной связью.

Таким образом, речь может идти о выявлении собственно полисахаридов, а также мукополисахаридов или гликопротеидов. Роль этих соединений в регуляции вязкости слизи трахеобронхиального секрета, особенно при холодовом воздействии, изучена недостаточно. Известно, что одним из механизмов повреждающего действия холода на дыхательные пути, наряду с изменениями ультраструктурной организации

мукоцилиарного клиренса [8], может служить гиперсекреция бронхиальной слизи и изменение ее физико-химических свойств. Получены данные о том, что гиперпродукция муцина 5AC, основного компонента бронхиальной слизи, опосредована холодowymi рецепторами TRPM8, локализованными в бронхиальном эпителии и функционирующими как катионные каналы [11, 12].

Цель настоящего исследования заключалась в гистохимической характеристике углеводных соединений в воздухоносном отделе крыс под действием холодного воздуха.

Материалы и методы исследования

Экспериментальное исследование было проведено на 100 белых крысах-самцах, охлаждение которых проводили в климатической камере «ILKA-3001» (Германия) при температуре -15°C однократно и в течение 15 и 30 дней по 3 часа ежедневно. Протокол экспериментальной части исследования соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно приложению № 4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)». Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике АГМА.

Изготовление блоков проводилось по общепринятой методике заливки материала в парафин. Микроскопирование и фотографирование осуществлялось на фотомикроскопе «Microphot-FXA» (Nikon, Япония). Для изготовления полутонких и ультратонких срезов материал фиксировался в 2% глютаральдегиде с последующей дофиксацией четырехокисью осмия и заливкой в смесь эпон-аралдит. Полутонкие и ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме «LKB-NOWA» (Швеция). Для светооптического исследования применялись полутонкие срезы, которые окрашивались метиленовым синим или толудином. Исследование полутонких срезов применялось как самостоятельный морфологический метод. Для электронно-микроскопического исследования применялись ультратонкие срезы, контрастированные уранил-ацетатом и цитратом свинца. Ультратонкие срезы исследовались в трансмиссионном электронном микроскопе «Technai G2 Spirit TWIN» (Голландия). Реакция ШИК для выявления нейтральных мукополисахаридов проводилась по методу Мак-Мануса. Выявление кислых мукополи-

сахаридов проводилось альциановым синим, метиленовым синим по методу Сидмена и рутениевым красным.

Результаты исследования

У intactных крыс во всех оболочках трахеи реакция на нейтральные мукополисахариды (рис. 1, 2, 3) выражена слабо и однородна по активности.

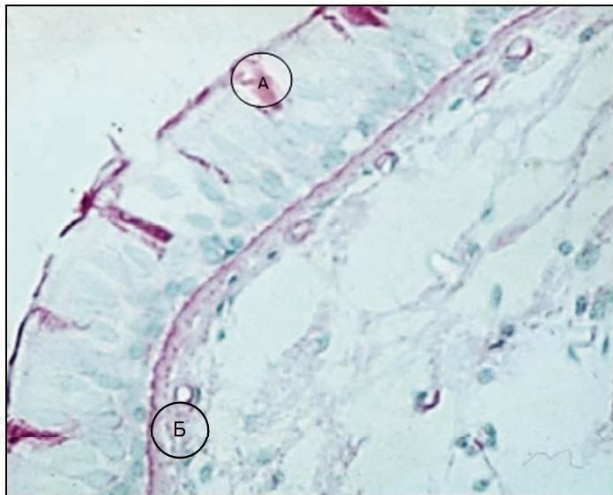


Рис. 1. Слизистая оболочка трахеи intactного животного. В эпителии небольшое число бокаловидных клеток (А), содержащих нейтральные мукополисахариды только в апикальной зоне. Продукты реакции на нейтральные мукополисахариды при ШИК-реакции выявляются в базальной мембране (Б), окрашивая ее равномерно в бледно-розовый цвет. Окраска: методом ШИК-реакции по Мак-Манусу. Увеличение: 560.

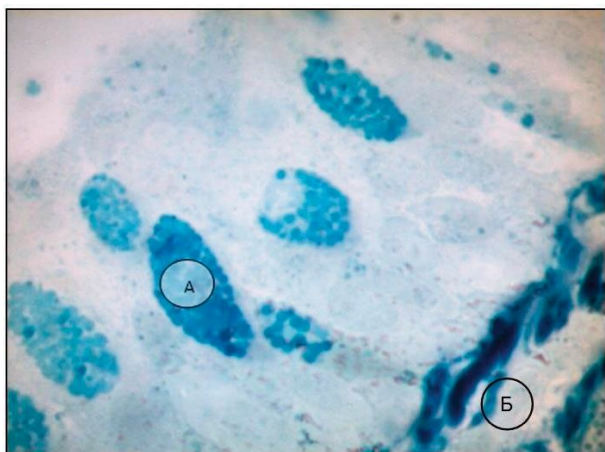


Рис. 2. Слизистая оболочка трахеи intactного животного. Нейтральные мукополисахариды выявляются в гранулах секрета (А) апикального полюса бокаловидных клеток и базальной мембраны (Б). Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Увеличение: 1000.

Более чётко ШИК-позитивные вещества выявляются в базальной мембране эпителия. Самую интенсивную окраску дает муцин бокаловидных клеток трахеи и бронхов, а также железы в подслизистой основе. У intactных крыс в однослойном многорядном реснитчатом эпителии нейтральные мукополисахариды и гликозаминогликаны определяются в бокало-

видных клетках. Последние имеют вытянутую форму, слегка увеличиваясь в апикальном полюсе в форме бокала. Секрет накапливается в небольшом количестве, секретируется по мерокриновому типу и равномерно выделяясь на поверхность эпителия распределяется в слизистом слое, покрывающим поверхность ресничек (рис. 2).

При электронно-микроскопическом исследовании поверхности трахеи слизистый секрет формирует два слоя и представляет собой многокомпонентный коллоидный раствор, состоящий из двух фаз – растворимой и нерастворимой. Электронно-микроскопическое выявление кислых гликозаминогликанов показало его равномерное распределение в нерастворимой фазе и на поверхности ресничек и микроворсинок (рис. 3А). Продукты реакции на рутениевый красный выявляются в виде электронно-плотной тонкой муфты на наружной мембране ресничек и микроворсинок (рис. 3Б). Между микроворсинками кислые мукополисахариды хлопьеобразно формируют надмембранные комплексы, нередко соединяясь, образуют мелкоячеистую сеть. В самих гранулах бокаловидных клеток продукты реакции выявляются в виде тонких оболочек вокруг гранул секрета (рис. 3В).

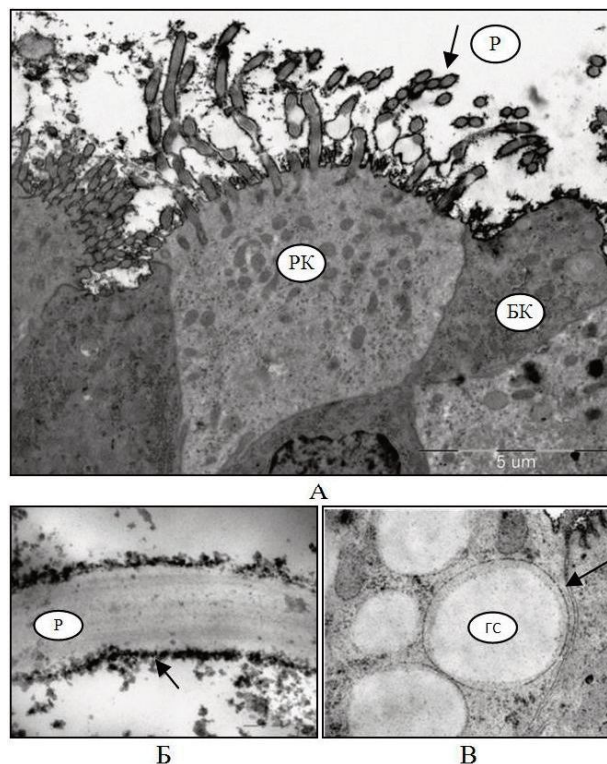


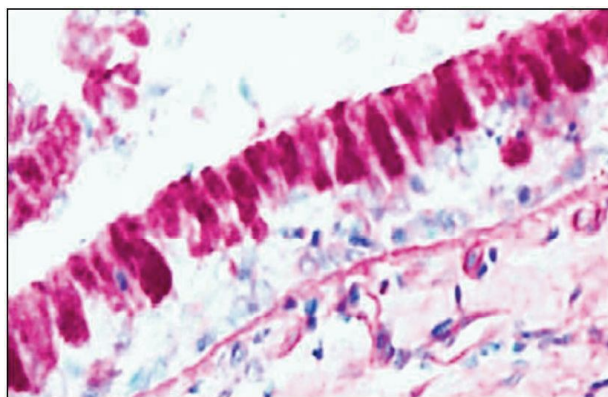
Рис. 3. Слизистая оболочка трахеи intactного животного. Стрелки – кислые мукополисахариды на поверхности реснитчатых клеток (РК) хлопьеобразно формируют надмембранные комплексы ресничек (Р) и тонкие оболочки вокруг гранул секрета (ГС) бокаловидных клеток (БК). Электронограмма. Увеличение: А – 13500, Б – 60000, В – 80000.

В подслизистой основе трахеи нейтральные мукополисахариды выявляются в секреторных клетках желез. Реакция на ШИК-позитивные вещества и гли-

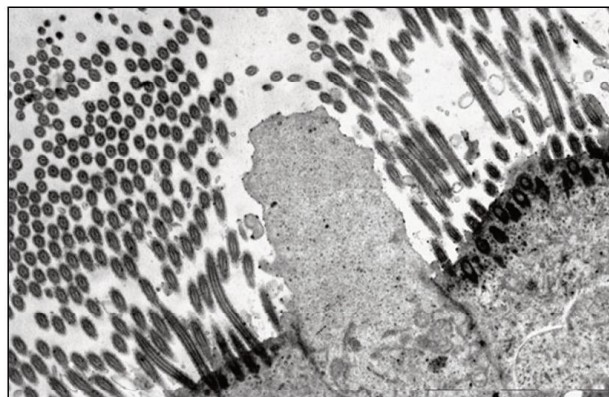
козаминогликаны в соединительной ткани умеренная. В соединительной ткани подслизистой и адвентициальной оболочек трахеи встречаются многочисленные тучные клетки. Число тучных клеток в адвентициальной оболочке на дорзальной поверхности более значительно, чем в вентральном отделе. Реакция на гликозаминогликаны в этих клетках варьирует. Выявляются зоны миграции лаброцитов и зернистых лейкоцитов через эпителий путём образования длинных псевдоподий, в основном, в местах присутствия «светлых» эпителиоцитов.

При охлаждении в течение 3 часов отмечено значительное усиление реакции на ШИК-положительные

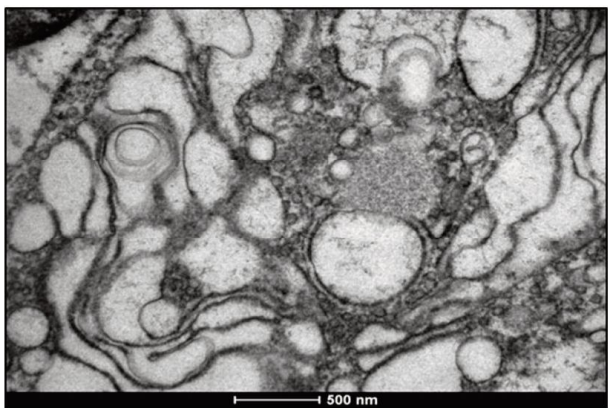
вещества (нейтральные полисахариды) в эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки (рис. 4А). Резкое увеличение объёма бокаловидных клеток сопровождалось увеличением их апикальной поверхности (рис. 4Б). На базальном полюсе значительно гипертрофировался комплекс Гольджи (рис. 4В). В значительно утолщенном фибриллярном нерастворимом слое секрета на поверхности эпителия обнаруживаются слущенные ШИК-положительные эпителиальные (чаще реснитчатые) клетки, их включения и микроорганизмы. Со стороны базальной мембраны и подслизистой основы изменений не выявлено.



А



Б



В

Рис. 4. Слизистая оболочка трахеи после 15-дневного охлаждения.

А – большое число увеличенных в размере бокаловидных клеток, в которых выявляется высокая интенсивность реакции на ШИК-положительные вещества. Окраска методом ШИК-реакции по Мак-Манусу. Увеличение: 560.

Б – увеличение размеров и объёма апикальной части бокаловидной клетки. Электронограмма. Увеличение: 25000.

В – гипертрофия комплекса Гольджи бокаловидной клетки. Электронограмма. Увеличение: 60000.

При длительном холодном воздействии в течение 15 дней гликозаминогликаны выявляются в виде хлопьевидных скоплений между ресничками и, особенно, в большом количестве между микроворсинками. Высокая концентрация продуктов гистохимической реакции на кислые мукополисахариды отмечена в стенке кровеносных сосудов всех калибров и базальной мембране эпителия. Кровеносные сосуды расширены и кровенаполнены. Возрастает число очаговых реакций на ШИК-позитивные вещества в стенке кровеносных сосудов, в базальной мембране эпителия и в собственной пластинке слизистой оболочки всех бронхов. Реакция на гликозаминогликаны в соединительной ткани имеет тенденцию к очаговому увеличению, преимущественно на дорзальной поверхности, меньше – на латеральной и вентральной. При гистохимической реакции на гликозаминогликаны выявлено неравномерное распределение частиц рутениевого красного по

ходу коллагеновых волокон. В базальном слое эпителиальной выстилки выявляются многочисленные межклеточные каналы, через которые мигрируют клеточные элементы, в основном, тучные клетки. Их число составляет $4,35 \pm 0,31$ на 100 мкм эпителиального пласта. Тучные клетки, мигрирующие через эпителий, содержат многочисленные гранулы крупного размера, реакция в которых на гликозаминогликаны снижена. В ходе миграции происходит дегрануляция лаброцитов, поэтому в эпителии определяется большое число базофильно-окрашенных гранул. Повышается интенсивность реакции на ШИК-положительные вещества, которые наиболее активно выявляются в мышечной пластинке и в перибронхиальной соединительной ткани. Реакция на гликозаминогликаны в соединительной ткани бронхов несколько снижается по сравнению с таковыми у интактных животных. Таким образом, при охлаждении организма крыс на протяжении 15

дней в слизистой оболочке увеличивается количество кислых мукополисахаридов. Повышается миграция тучных клеток в эпителий, где происходит достаточно часто их дегрануляция. В соединительной ткани воздухоносных путей появляются очаги фиброза и явления отёка, увеличивается интенсивность реакции на ШИК-положительные вещества в стенке бронхиального дерева. Всё вышеперечисленное свидетельствует в пользу неоднородности, мозаичности реакции слизистой оболочки и рыхлой соединительной ткани на действие низкой температуры и иллюстрирует стадию адаптивного напряжения.

К 30 дню охлаждения в эпителии происходит переключение клеточно-дифференной организации в направлении многослойного плоского эпителия. Это преобразование, скорее всего, связано с нарушением функции базальной мембраны. Она утолщается, нарушается ее проницаемость. В зоне, прилежащей к базальной мембране эпителия, выявляется высокая интенсивность реакции на гликозаминогликаны и ШИК-положительные вещества. Достаточно часто в составе секрета, расположенного на поверхности многослойного эпителия, присутствуют многочисленные клетки, имеющие высокую ШИК-положительную реакцию (рис. 5). В некоторых участках слизистой оболочки происходит трансформация эпителия в многослойный плоский. На поверхности многослойного эпителия выявляется большое количество неравномерно распределенного секрета, имеющего ШИК-положительную реакцию (рис. 6).

Значительное увеличение кислых мукоидов, окрашенных рутениевым красным, выявляется вокруг микроворсинок, ресничек и в цитоплазме реснитчатых клеток эпителия в виде слоистых образований (рис. 7). Толщина базального слоя эпителия достоверно возрастает до $2,26 \pm 0,1$ мкм. Возрастание толщины базального слоя, вероятно, происходит за счёт увеличения в этом участке количества основного компонента рыхлой соединительной ткани, об этом свидетельствует высокая интенсивность реакции на гликозаминогликаны. В структуре базального слоя выявляются мигрирующие клеточные элементы, основными из них являются эозинофилы и тучные клетки. Число лаброцитов составляет $5,1 \pm 0,34$ на 100 мкм эпителиального пласта. Мигрирующие через эпителий тучные клетки имеют интенсивную ШИК-положительную окраску, чёткие границы. Строение эпителия на большем протяжении приближается к многослойному плану строения, хотя сохраняются участки с однослойным эпителием, но с расширенными межклеточными пространствами от базального до апикального полюсов. Артерии и вены подслизистой оболочки на дорзо-вентральной поверхности резко расширены. В соединительной ткани, особенно в зоне прилежащей к базальным мембранам эпителия и кровеносных сосудов, выявляются очаги с высокой интенсивностью реакции на ШИК-положительные вещества и гликозаминогликаны. Таким образом, при тридцатидневном холодовом воздействии значительные струк-

турные изменения выявляются в базальной мембране и в клеточном составе эпителия. Полученные данные свидетельствуют, что в слизистой оболочке происходит трансформация эпителия в многослойный плоский. Нейтральные мукополисахариды и кислые гликозаминогликаны накапливаются в поверхностно лежащих эпителиальных клетках и утолщенной базальной мембране. В соединительной ткани трахеи, бронхов появляются значительные зоны фиброза, в составе которых преобладают зрелые коллагеновые волокна. Между ними присутствуют многочисленные эозинофилы, плазмциты и тучные клетки. В соединительной ткани увеличивается уровень реакции на ШИК-положительные вещества.



Рис. 5. Слизистая оболочка трахеи крысы после 30-дневного охлаждения. Очаговое усиление реакции на ШИК-положительные вещества по ходу волокон и вокруг кровеносных сосудов. На поверхности эпителия находятся клетки, имеющие высокую ШИК-положительную реакцию (стрелка). Окраска: методом ШИК-реакции по Мак-Манусу. Увеличение: 560

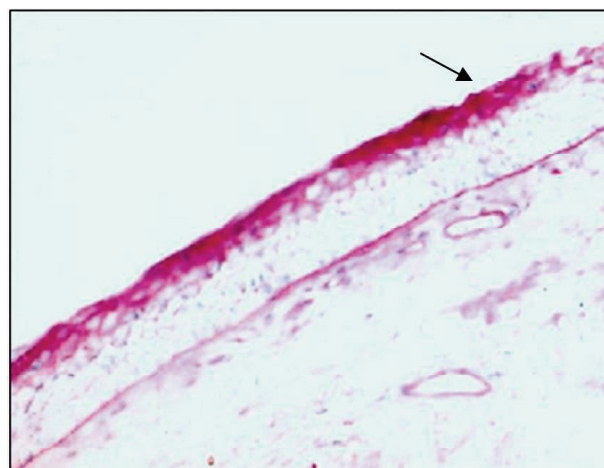


Рис. 6. Слизистая оболочка трахеи крысы после 30-дневного охлаждения. Поверхностный слой клеток метаплазированного эпителия слизистой оболочки содержит нейтральные мукополисахариды (стрелка). Окраска: методом ШИК-реакции по Мак-Манусу. Увеличение: 560.

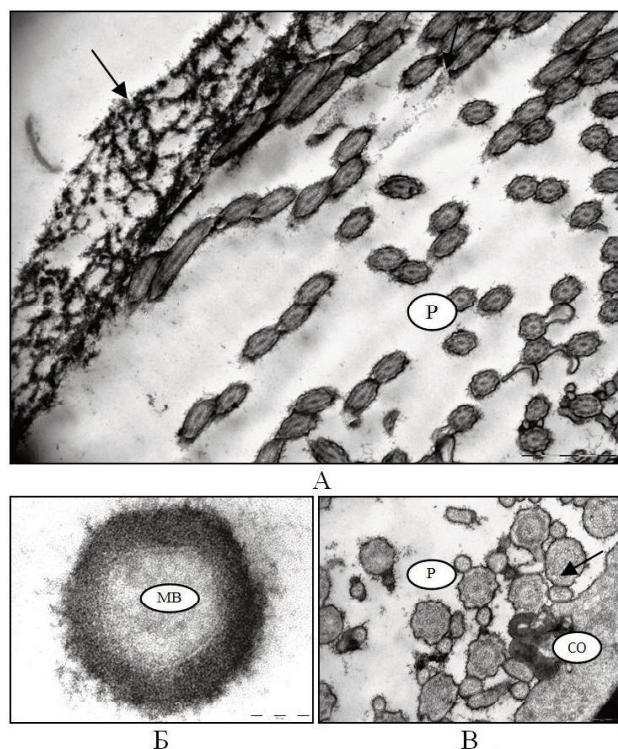


Рис. 7. Слизистая оболочка трахеи крысы после 30-дневного охлаждения. А – значительное увеличение кислых мукополисахаридов, окрашенных рутениевым красным, выявляется в фибриллярном слое слизи (стрелка), вокруг ресничек (Р); Б – вокруг микроворсинки (МВ); В – в цитоплазме реснитчатых клеток эпителия в виде слоистых образований (СО). Электронограммы. Увеличение: А – 30000, Б – 150000, В – 60000.

Обсуждение результатов исследования

В природных условиях животные практически никогда не испытывают равномерного длительного воздействия постоянной низкой температуры. Они в состоянии так изменять условия теплообмена, что действие холода оказывается прерывистым или периодическим. Имеются данные о том, что повторяющиеся кратковременные воздействия холодом довольно быстро приводят к адаптивному повышению устойчивости организма. Дыхательные пути являются той системой, которая (наряду с немногими) первой испытывает на себе воздействие экстремального фактора – низкой температуры. В этих условиях защитная функция всех структур легкого направлена на поддержание нормальной деятельности самой респираторной системы и всего организма в целом. Работами многих исследователей [1, 8, 9, 10] показано, что ряд заболеваний дыхательной системы или действие экспериментальных факторов приводит к возникновению воспалительного процесса в бронхолегочном аппарате, и главным местом проявления является слизистая оболочка и соединительная ткань воздухоносного отдела легких. В наших исследованиях комплексный подход помог оценить степень морфологической устойчивости и этапность изменений структур эпителиального пласта и соединительной ткани в различных отделах дыхательной системы при действии на организм низ-

кой температуры.

К пятнадцатому дню охлаждения в слизистой оболочке и рыхлой соединительной ткани всех отделов воздухоносных путей очагово возрастает число коллагеновых и эластических волокон. Наиболее значительные структурные изменения в соединительной ткани трахеи выявляются на дорзальной поверхности, здесь увеличено число очагов фиброза и зон с повышенной интенсивностью реакции на гликозаминогликаны. Вместе с тем достаточно часто выявляются зоны, где коллагеновые волокна не имеют типичных признаков повреждения. По данным литературы [3, 6], наблюдаемые изменения коллагеновых волокон, такие как набухание, фрагментация, гомогенизация и метакромазия могут быть обусловлены преимущественно появлением новых взаимоотношений между коллагеном и белково-углеводными комплексами, цементирующих вещество волокон, а также «пропитыванием» их плазменными белками. В пользу этого свидетельствует усиление интенсивности реакции на ШИК-позитивные вещества и гликозаминогликаны не только по ходу волокнистых структур, но и в стенке кровеносных сосудов и базальном слое эпителия. В составе рыхлой соединительной ткани нарастает число малодифференцированных фибробластов и активно-синтезирующих коллагенобластов. В стенке бронхов и в межальвеолярных перегородках отмечен рост числа тучных клеток, содержащих многочисленные вакуоли и включения. Вышеописанные изменения наиболее характерны для стадии адаптивного напряжения. В данном случае типично последовательное развитие гуморальных и клеточных фаз воспаления, в ходе которых создаются предпосылки для перехода в стадию стабилизации. В этот период в соединительной ткани происходит увеличение ШИК-позитивных веществ и гликозаминогликанов. Если последние являются в основном продуктом деятельности клеточных элементов самой соединительной ткани, то нейтральные полисахариды в большей своей части поступают из кровеносного русла. По-видимому, с этим связано опережающее увеличение ШИК-позитивных веществ в стенке кровеносных сосудов. Вместе с кровью в ткани доставляются ферменты, активирующие деполимеризацию основного вещества. Если они поступают в меньшем количестве, это ведет к нарастанию уровня полимеризации и, как следствие, к замедлению транспорта интерстициальной жидкости и нарушению оксидиотических процессов, что, в свою очередь, приводит к нарастанию гипоксии и, как результат, появлению очагов деструкции базальной мембраны и соединительной ткани. Определенное значение в этих условиях имеет возрастание числа активных эозинофилов и тучных клеток. Появление продуктов разрушения тканевых структур активирует пролиферацию фибробластов, что и было отмечено в наших предыдущих экспериментах [2, 6–9]. По данным литературы [3, 5] в участках активного фибриллогенеза происходит опережающее накопление гликозаминогликанов и гликопротеидов, что убыстряет темп восстановления соединительнотканых структур. Развившиеся изме-

нения являются показателем нарушения обменных процессов в соединительной ткани и в эпителии органов дыхания, о чем свидетельствуют признаки структурной перестройки эпителиального пласта, появление «светлых» эпителиоцитов во всех отделах бронхиального дерева. В зоне локализации «светлых» эпителиоцитов обнаруживаются многочисленные крупные базофильно-окрашенные гранулы тучных клеток, это результат их дегрануляции и частичного разрушения. Часть лаброцитов сохраняет немногочисленные гранулы и мигрирует в просвет бронхов. Особая реакция тучных клеток в зонах локализации «светлых» эпителиоцитов дает основание предположить, что последние в процессе своей жизнедеятельности выделяют гистамин и серотонин в межклеточные пространства и имеют на своей оболочке большое количество метаболитов которые, вступая в контакт с иммуноглобулинами Е, находящимися на поверхности лаброцитов, активируют процесс дегрануляции их в толще эпителия [3, 7]. Деструкция эпителия обеспечивает гиперреактивность дыхательных путей за счет увеличения проницаемости слизистой оболочки бронхов. В структуре эпителия обращает на себя внимание наличие широких межклеточных промежутков, формирующих систему лабиринтов, заполненных тканевой жидкостью. Клетки базального слоя не всегда имеют плотные контакты с базальной мембраной. Все это создает «идеальные» условия для активного проникновения продуктов метаболизма и микроорганизмов из просвета бронха в подлежащую соединительную ткань, таким образом, обеспечивая длительность течения воспалительного процесса. После многократно повторяющихся воспалений, вместо усиления барьерных свойств слизистой оболочки она превращается в ворота, проходимые для крупномолекулярных субстанций, то есть в ворота для проникновения инфекций. При длительном охлаждении, в тех участках слизистой оболочки, где появлялись изменения в структуре эпителия, непременно выявляется нарушения в базальной мембране на большем или меньшем протяжении. Это происходит за счет активного внедрения в структуру базальной мембраны клеточных элементов мигрирующих из соединительной ткани. Толщина собственной пластинки слизистой значительно возрастает в результате явления отека, показателями которого служит увеличение расстояния между волокнами, снижение электронной плотности основного вещества и признаки мукоидного набухания коллагеновых волокон. Накопление гликозаминогликанов в межклеточном веществе рыхлой соединительной ткани и стенке кровеносных сосудов служит своеобразным индуктором, обеспечивающим образование волокнистых структур. При длительном охлаждении, вслед за возникающим повышением катаболизма в соединительной ткани, разрушением коллагена и клеток, образующиеся продукты их распада стимулируют активацию анаболических процессов всех её компонентов.

Таким образом, при длительном холодном воздействии в воздухоносном отделе легких развивается комплекс нарушений углеводного обмена, обуславливающих длительное течение воспалитель-

ного процесса в слизистой оболочке трахеи и бронхов, что и приводит к развитию склеротических изменений в соединительной ткани. Немаловажное значение в хронизации патологических процессов в легких, согласно литературным данным [6], имеет интенсификация процессов перекисного окисления липидов и снижение антиоксидантной системы организма, которая в данных условиях неспособна нейтрализовать действие цитотоксических факторов, усугубляя при этом повреждение тканей. Расшифровка роли нейтральных мукополисахаридов и гликозаминогликанов в формировании диспергационного и мукоцилиарного транспорта в норме и при патологии органов дыхания при экстремальных температурных воздействиях позволяет подойти к объяснению и выявлению причинных факторов, способных приводить к неблагоприятному течению хронических заболеваний респираторной системы [1]. Детальное изучение этапности и моделирование изменений мукополисахаридов при холодовых воздействиях является наиважнейшим моментом для обоснования концепции и закономерностей адаптации организма к действию низких температур, и требуют дальнейшего исследования.

На основании проведенного исследования определена возможность использовать морфофункциональные и гистохимические критерии оценки основных компонентов мукополисахаридного обмена, приводящих к нарушению мукоцилиарного клиренса. Полученные результаты о состоянии углеводного обмена в соединительной ткани воздухоносного отдела легких в качестве объективной оценки структурно-метаболического гомеостаза при патологических процессах в легких (окислительный стресс, хронические обструктивные заболевания лёгких, метаболический синдром) требуют дальнейшего исследования для обоснования новых методов диагностики и разработки эффективных методов коррекции.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №12-04-91162).

ЛИТЕРАТУРА

1. Диспергационный и мукоцилиарный транспорт при болезнях органов дыхания / В.П.Колосов [и др.]. Владивосток: Дальнаука, 2011. 276 с.
2. Красавина Н.П., Целуйко С.С., Доровских В.А. Тучные клетки органов дыхания и перспективы их изучения (обзор литературы) // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2004. Вып.19. С.74–79.
3. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) / под ред. С.П.Миронова. М.: Известия, 2009. Т.1. 374 с.
4. Нарушения мукоцилиарного клиренса при бронхиальной астме / А.Н.Одирев [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2010. Вып.37. С.15–21.
5. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М.: Медицина. 1981. 312 с.
6. Целуйко С.С., Доровских В.А., Красавина Н.П. Морфологическая характеристика соединительной ткани органов дыхания при общем охлаждении. Благовещенск, 2000. 256 с.

7. Целуйко С.С., Красавина Н.П. Морфофункциональная характеристика соединительной ткани органов дыхания при общем охлаждении организма на фоне медикаментозной коррекции // Дальневост. мед. журн. 2002. №1. С.8–11.
8. Целуйко С.С. Ультраструктурная организация мукоцилиарного клиренса в норме и при холодном воздействии // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2009. Вып.33. С.7–12.
9. Целуйко С.С., Красавина Н.П. Иммуноцитохимическая характеристика типов коллагена соединительной ткани биоптатов бронхов больных с дисплазией органов дыхания // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2010. Вып.38. С.36–42.
10. Юрина Н. А., Радостина А. И. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани. М.: Ун-т дружбы народов, 1990. 322 с.
11. Li M.C., Perelman J.M., Kolosov V.P., Zhou X.D. Effects of transient receptor potential melastatin 8 cation channels on inflammatory reaction induced by cold temperatures in human airway epithelial cells // *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2011. Vol.34, №10. P.757–761.
12. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011. Vol.128, №3. P.626–634.
13. Lu W., Lillehoj E.P., Kim K.C. Effects of dexamethasone on Muc5ac mucin production by primary airway goblet cells // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005. Vol.288, №1. P.52–60.
14. Central Role of Muc5ac Expression in Mucous Metaplasia and Its Regulation by Conserved 59 Elements / H.W.J. Young [et al.] // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2007. Vol.37, №3. P.273–290.
1. Kolosov V.P., Dobrykh V.A., Odireev A.N., Lutsenko M.T. *Dispergatsionnyy i mucotsiliarnyy transport pri boleznyakh organov dykhaniya* [Dispergation and mucociliary transport at respiratory diseases]. Vladivostok: Dal'nauka; 2011.
2. Krasavina N.P., Tseluyko S.S., Dorovskikh V.A. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2004; 19:74–79.
3. Omel'yanenko N.P., Slutskiy L.I. *Soedinitel'naya tkan' (gistofiziologiya i biokhimiya)* [Connective tissue (histology and biochemistry)]. Moscow: Izvestiya; 2009.
4. Odireev A.N., Zhou X.D., Li Q., Kolosov V.P., Lutsenko M.T. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2010; 37:15–21.
5. Serov V. V., Shekhter A. B. *Soedinitel'naya tkan' (funktional'naya morfologiya i obshchaya patologiya)* [Connective tissue: functional morphology and general pathology]. Moscow: Meditsina; 1981.
6. Tseluyko S.S., Dorovskikh V.A., Krasavina N.P. *Morfologicheskaya kharakteristika soedinitel'noy tkani organov dykhaniya pri obshchem okhlazhdenii* [Morphological characteristics of the connective tissue of the respiratory system in general cooling]. Blagoveshchensk; 2000.
7. Tseluyko S.S., Krasavina N.P. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal* 2002; 1:8–11.
8. Tseluyko S.S. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2009; 33:7–12.
9. Tseluyko S.S., Krasavina N.P. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2010; 38:36–42.
10. Yurina N. A., Radostina A. I. *Morfofunktional'naya geterogennost' i vzaimodeystvie kletok soedinitel'noy tkani* [Morphofunctional heterogeneity and the interaction of connective tissue cells] Moscow: Universitet druzhby narodov; 1990.
11. Li M.C., Perelman J.M., Kolosov V.P., Zhou X.D. Effects of transient receptor potential melastatin 8 cation channels on inflammatory reaction induced by cold temperatures in human airway epithelial cells. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2011; 34(10):757–761.
12. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128(3):626–634.
13. Lu W., Lillehoj E.P., Kim K.C. Effects of dexamethasone on Muc5ac mucin production by primary airway goblet cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005; 288(1):L52–60.
14. Young H.W.J., Williams O.W., Chandra D., Bellinghausen L.K., Pe'rez G., Sua'rez A., Tuvim M. J., Roy M.G., Alexander S.N., Moghaddam S.J., Adachi R., Blackburn M.R., Dickey B.F., Evans C.M. Central Role of Muc5ac Expression in Mucous Metaplasia and Its Regulation by Conserved 59 Elements. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2007; 37(3):273–290.

REFERENCES

Поступила 10.10.2012

Контактная информация

Сергей Семенович Целуйко,

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии,

Амурская государственная медицинская академия,

675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

E-mail: agma@nm.ru

Correspondence should be addressed to

Sergey S. Tseluyko,

MD, PhD, Professor, Head of Department of Histology,

Amur State Medical Academy,

95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: agma@nm.ru