

Морфогенез ателектазов легких при экспериментальном радиоиндуцированном воздействии

Ю.А. Кириллов¹, И.А. Чернов², Е.М. Малышева^{2,4}, С.Е. Тимофеев^{2,4}, Е.А. Старцева⁴, О.А. Розенберг³

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, Тюмень, Россия

³ ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ГБУЗ Городская клиническая больница № 40 Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Введение. Ателектазы легких, возникающие при лучевом воздействии на органы грудной клетки, нередко сопровождаются развитием лучевых альвеолитов, фиброзов и дыхательной недостаточности. Показано существенное нарушение структуры альвеолоцитов при различных видах альвеолитов, однако влияние лучевого воздействия на сосудистый компартмент легочной ткани, бронхиолы и альвеолоциты, а также межклеточные структуры в процессе формирования ателектазов не подвергалось детальным исследованиям. Недостаточно изучено значение количественных и качественных изменений легочного сурфактанта (ЛС) при развитии ателектазов. Цель исследования – изучить морфогенез ателектазов при экспериментальной патологии легких, вызванной радиоиндуцированным воздействием.

Материалы и методы. Исследование проведено на 60 самцах крыс породы Вистар в возрасте 8–9 недель, массой тела 200–220 граммов. Однократное локальное облучение животных, находившихся под нембуталовым наркозом (40 мг/кг веса), осуществляли аппаратом РУМ – 17 (напряжение 200 кВ, сила тока 15 мА, фильтры 0,5 мм Cu+ 1,0 мм Al, кожно-фокусное расстояние 25 см.) в дозе 12 Гр. Количественное определение фосфолипидов (ФЛ) легочного сурфактанта определяли в лаважной жидкости, извлеченной из легкого крысы. Материал исследовали гистологически (окраска гематоксилином и эозином, альциановым синим, пикрофуксином по Ван Гизону) и электронномикроскопически. Морфометрически на контрольных образцах и на разных сроках после воздействия ионизирующего излучения высчитывали толщину эпителиальной выстилки бронхиол, средний диаметр ядер эпителиоцитов бронхиол, толщину межальвеолярных перегородок.

Результаты. Ателектазы, возникающие в ранние сроки эксперимента, являются сурфактантзависимыми, что подтверждается снижением количества ЛС и ФЛ в лаважной жидкости. Формирование ателектазов в поздние сроки обусловлено реализацией обтурационного механизма, сужением просвета бронхов и бронхиол за счет утолщения эпителиальной выстилки и выраженной бронхо-бронхиолоконстрикции.

Заключение. Понимание механизмов развития ателектазов необходимо для реализации комплекса мероприятий по их профилактике и снижению числа осложнений.

Ключевые слова: ателектаз, дистелектаз, морфометрия, лучевой фиброз, лучевой альвеолит

Для корреспонденции: Юрий Александрович Кириллов. E-mail: youri_kirillov@mail.ru

Для цитирования: Кириллов Ю.А., Чернов И.А., Малышева Е.М., Тимофеев С.Е., Старцева Е.А., Розенберг О.А. Морфогенез ателектазов в развитии патологии легких при экспериментальном радиоиндуцированном воздействии. Клини. эксп. морфология. 2020;9(1):30–39. DOI:10.31088/CEM2020.9.1.30-39

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 18.11.2019. Получена после рецензирования 15.01.2020. Принята в печать 11.02.2020.

Development of pulmonary atelectasis after experimental radiation exposure

Yu.A. Kirillov¹, I.A. Chernov², E.M. Malysheva^{2,4}, S.E. Timofeev^{2,4}, E.A. Startseva⁴, O.A. Rozenberg³

¹ Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

² Tyumen State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tyumen, Russia

³ AM Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies of Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

⁴ City Clinical Hospital No. 40 of the Department of Health of the City of Moscow, Moscow, Russia

Introduction. Pulmonary atelectasis that occur in the chest organs exposed to radiation is often accompanied by the development of radiation alveolitis, fibrosis, and respiratory failure. Different forms of alveolitis cause severe disturbance of the structure of alveolocytes. However, the effect of radiation on the vascular compartment of pulmonary tissue, bronchioles and alveolocytes, and intercellular structures in the formation of atelectasis was not studied in detail. The importance of quantitative and qualitative changes in pulmonary surfactant (PS) in the development of atelectasis was understudied.

The aim of the work was to explore the development of pulmonary atelectasis in rats after radiation exposure. *Materials and methods.* The study was carried out on 60 male Wistar rats aged 8-9 weeks, body weight 200-220 g. Single local irradiation of animals under Nembutal anesthesia (40 mg / kg weight) was carried out by the RUM-17 apparatus (voltage 200 kV, current 15 mA, filters 0.5 mm Cu + 1.0 mm Al, skin-focal length 25 cm) at a dose of 12 Gy. Phospholipids (PL) in pulmonary surfactant were quantitatively determined in lavage fluid extracted from the rat lung. The material was examined histologically (hematoxylin and eosin, alcian blue, picrofuchsin according to Van Gieson) and under transmission electron microscope. The thickness of the epithelial lining of bronchioles, the average diameter of the nuclei of epithelial cells of bronchioles and the thickness of the interalveolar partitions were calculated morphometrically on control samples at different time periods after exposure to ionizing radiation.

Results. Atelectasis occurred at the early stages of the experiment is surfactant-dependent, which is confirmed by the decreased amount of PS and PL in lavage fluid. The formation of atelectasis in later periods is caused by the obturation, narrowing of the lumen of the bronchi and bronchioles due to thickening of the epithelial lining and pronounced bronchial bronchoconstriction.

Conclusion. Understanding the mechanisms of development of atelectasis is necessary in order to prevent the pathology described above and reduce the risk of complications.

Keywords: atelectasis, distelectasis, morphometry, radiation fibrosis, radiation alveolitis

Corresponding author: Yuri A. Kirillov. E-mail: youri_kirillov@mail.ru

For citation: Kirillov Yu.A., Chernov I.A., Malysheva E.M., Timofeev S.E., Startseva E.A., Rozenberg O.A. Development of pulmonary atelectasis after experimental radiation exposure. Clin. exp. morphology. 2020;9(1):30–39. (In Russ.). DOI:10.31088/CEM2020.9.1.30-39.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 18.11.2019. **Received in revised form** 15.01.2020. **Accepted** 11.02.2020.

Введение

Причины развития ателектаза легких достаточно широки, начиная от травматического повреждения грудной клетки, последствий расширенных операций на легких, вирусных пневмоний, ожогов поверхности тела и ингаляционной травмы, общего наркоза, обтурации бронха и различных экзогенных воздействий, включая химическое или лучевое поражение легких. В отечественной литературе серьезные фундаментальные исследования по изучению ателектазов были проведены в 1970–1990 годы [1–3]. В современных руководствах по пульмонологии и патологической анатомии легких ателектазу посвящено в лучшем случае несколько страниц [4, 5]. Е.А. Коган, отводящая ателектазу легких роль одного из возможных путей морфогенетического развития идиопатического фиброзирующего альвеолита, акцентирует внимание на его существовании, называя фиброателектазом – ателектаз как результат ранее перенесенных воспалительных изменений в легких. Последние, как правило, оставляют после себя обширные грубые склеротические изменения в ткани легких [6]. Экспериментально показано существенное нарушение структуры альвеолоцитов первого и второго типа при лучевом альвеолите [7], однако влияние рентгеновского облучения на изменения в структурных отношениях

сосудистого компартмента легочной ткани, бронхоиол и альвеолицитов первого и второго типа, а также межклеточных структур в процессе формирования ателектазов детально не исследовалось. Наблюдаемый в настоящее время пик публикационной активности обусловлен повышенным интересом исследователей к проблеме лучевого повреждения легких. В настоящее время существование радиоиндуцированной патологии легочной ткани объясняется развитием оксидативного (окислительного) стресса [8–10], при этом роль ателектазов и дистелектазов в развитии лучевых пневмонитов и фиброзов, как правило, не учитывается [11–13].

Известно, что повреждение многокомпонентного и многофункционального природного комплекса легочного сурфактанта (ЛС), обеспечивающего механику дыхания за счет способности снижать поверхностное натяжение и его защитные свойства по отношению к ткани легкого, обнаружено при многих легочных заболеваниях, однако количественные и качественные изменения ЛС при ателектазах изучены недостаточно.

Целью данной работы является изучение морфогенеза ателектазов в развитии патологии легких при экспериментальном радиоиндуцированном воздействии и роли количественных и качественных изменений со-

става фосфолипидов ЛС в формировании ателектазов легких.

Материалы и методы

В исследование были включены 60 самцов крыс породы Вистар в возрасте 8–9 недель массой тела 200–220 граммов. При проведении эксперимента соблюдались требования Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Животные содержались в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных по две особи в одной клетке с нелIMITированным доступом к воде и пище. Температура в комнате составляла $19 \pm 3^\circ\text{C}$, световой режим 12 часов, влажность 40–50%. Состояние животных оценивали по подвижности, уходу за собой, изменению массы тела, качеству волосяного покрова, признакам нарушения дыхания. Однократное локальное облучение животных, находившихся под нембуталовым наркозом (40 мг/кг веса), осуществляли аппаратом РУМ-17 (напряжение 200 кВ, сила тока 15 мА, фильтры 0,5 мм $\text{Cu}+$, 1,0 мм Al , кожно-фокусное расстояние 25 см) в дозе 12 Гр. Животное фиксировали на деревянной подставке с защитным свинцовым экраном толщиной 6 мм с прямоугольным окном размерами $3,0 \times 2,5$ см. Результаты рентгенографического контроля, полученные в предварительных опытах, свидетельствовали о включении в зону лучевого воздействия всех трех долей правого легкого. Контрольная группа животных состояла из шести особей – им имитировали процедуру фиксации, которой подвергались животные основной группы при проведении облучения. Для изучения динамики содержания фосфолипидов ЛС и их фракционного состава на каждом сроке эксперимента проводили тотальный бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) выделенного правого легкого посредством его трехкратного промывания 4,0–4,5 мл 0,9% раствором хлорида натрия (температура $22\text{--}23^\circ\text{C}$). Для этого весь объем лаважной жидкости, около 10–12 мл, центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 минут с последующим охлаждением для освобождения от клеток и дегрибра. Супернатант, содержащий ЛС, концентрировали упариванием на ротационном испарителе (Buchi, Швейцария). Аликвоту материала экстрагировали смесью хлороформа и метилового спирта в соотношении 1:2 и определяли в ней количество фосфолипидов по содержанию липидного фосфора после сжигания пробы при 180°C в хлорной кислоте [14].

Вывод из эксперимента остальных животных осуществляли также на 1-е, 3-и, 7-е сутки, 2-й, 7-й и 13-й неделях эксперимента путем внутрибрюшинного введения нембутала в дозе 80 мг/кг. У животных, находившихся в состоянии глубокого наркоза, вскрывали грудную клетку и через прокол трахеи медленно вводили 10% раствор формалина до момента расправления ткани обоих легких. Последующую фиксацию орга-

на также проводили в 10% нейтральном формалине в течение 24 часов. После окончания фиксации образцы легочной ткани, полученные из субплевральных и интрапульмонарных отделов средней доли правого легкого, проводили по стандартной методике и заключали в парафин с последующим приготовлением срезов толщиной 5 мкм, окрашиваемых гематоксилином и эозином, ализановым синим, пикрофуксином по ван Гизону. Для электронномикроскопического исследования участки ткани, полученные из тех же отделов легкого, объемом примерно 1 мм^3 фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на коллидиновом буфере (pH 7,4) при комнатной температуре в течение 1,5 часа. Затем материал промывали несколькими порциями того же буфера 30 минут. Кусочки ткани дофиксировали в 1% растворе тетроксид осмия на коллидиновом буфере в течение 1,0–1,5 часа при температуре $+4 \pm 6^\circ\text{C}$. Материал обезвоживали в спиртах восходящей концентрации (от 50° до 96°) и нескольких порциях эфира и заливали в аралдит. Для визуализации микрофотографии поверхности нативные образцы ткани объемом примерно 5 мм^3 помещали в раствор глутарового альдегида на нейтральном фосфатном буфере. После суточной экспозиции образцы ткани обезвоживали в водных растворах этанола от 40% до абсолютного спирта со ступенью 20% и экспозицией не менее 6 часов в каждой концентрации. Затем после часовой экспозиции в ацетоне переносили в камеру углекислотного высушителя Balzers CPD 030 (Balzers, Bal-Тес, Лихтенштейн) для окончательной дегидратации. На каждый образец наносили адгезивную углеродную ленту и напыляли сплавом Au-Pd с помощью плазменного напылителя Quorum SC7620 (Quorum, США). Визуализацию микрофотографии поверхности осуществляли на сканирующем электронном микроскопе Zeiss EVO LS10 (Zeiss, Германия). Полутонкие срезы, приготовленные на ультрамикротоме LKB (Швеция), окрашивали метиленовым синим с докраской фуксином. Ультратонкие срезы, приготовленные на аналогичном ультрамикротоме, исследовали на том же сканирующем электронном микроскопе с установленным детектором для просвечивающей микроскопии (STEM).

Оцифровку подготовленных и окрашенных срезов выполняли при помощи цифрового сканера Panoramic MIDI (3DHISTECH Ltd, Венгрия) в автоматизированном режиме с использованием $20\times$ объектива Carl Zeiss. Проверку полученных цифровых снимков, а также выбор участков для анализа осуществляли с использованием программного обеспечения Panoramic Viewer (3DHISTECH Ltd, Венгрия).

Морфометрические исследования выполняли при помощи программного обеспечения, разработанного Национальным институтом здравоохранения США (National Institutes of Health, NIH) ImageJ, версия 1.52a, на контрольных образцах и на разных сроках после воздействия ионизирующего излучения. Количественно

измеряли толщину эпителиальной выстилки бронхиол, средний диаметр ядер эпителиоцитов бронхиол, толщину межальвеолярных перегородок. Для определения линейных размеров межальвеолярных перегородок, ядер эпителиоцитов, эпителиальной выстилки бронхиол использовали инструмент Straight Line Selection Tool программы ImageJ.

Полученные результаты обрабатывали на персональном компьютере с использованием программ, входящих в состав пакета Microsoft Office. В каждой из групп определяли показатели $M \pm (m)$, где M – среднее арифметическое значение, а (m) – ошибка среднего арифметического. Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test). Статистически значимыми считались различия данных при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изменения легочной ткани в 1-е сутки после облучения обнаруживали преимущественно в субплевральных образцах и лишь на ультраструктурном уровне. В капиллярах межальвеолярных перегородок наблюдали выраженное набухание эндотелия, резкое уменьшение количества органелл, просветление цитозоля, сочетавшееся с пиноцитозом в одних клетках и идентификацией элементов цитоскелета в других. В просвете капилляров идентифицировали агглютинированные эритроциты и тромбоциты. Как правило, эти изменения сочетались с увеличением электронной плотности плазмы крови. Альвеолоциты первого и второго типа выглядели относительно сохранными, некоторые уплощенными. В осмиофильных пластинчатых тельцах альвеолоцитов второго типа наблюдали нарушение упорядоченного расположения мембран (рис. 1 А, В).

3-и сутки эксперимента характеризовались усилением полнокровия капилляров, прогрессированием отека и утолщением межальвеолярных перегородок, присоединением изменений клеточной составляющей аэрогематического барьера, сопровождавшейся разрушением сурфактанта (рис. 2). В этот период эксперимента суммарное содержание фосфолипидов, до этого неуклонно уменьшавшееся, достигло своего минимума.

Конец 1-й недели эксперимента стал в известной степени критическим для появления морфологических находок, поскольку в эти сроки отмечено формирование первых ателектазов, располагавшихся субплеврально (рис. 3). Бронхи и бронхиолы на участках ателектазов и дистелектазов были проходимы, а просвет несколько расширен. В некоторых наблюдениях в непосредственной близости с ателектазами обнаружены участки сохраненной воздушности. Биохимическое исследование фосфолипидов легочного сурфактанта выявило прогрессирующее снижение фракций фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилглицерина и дифос-

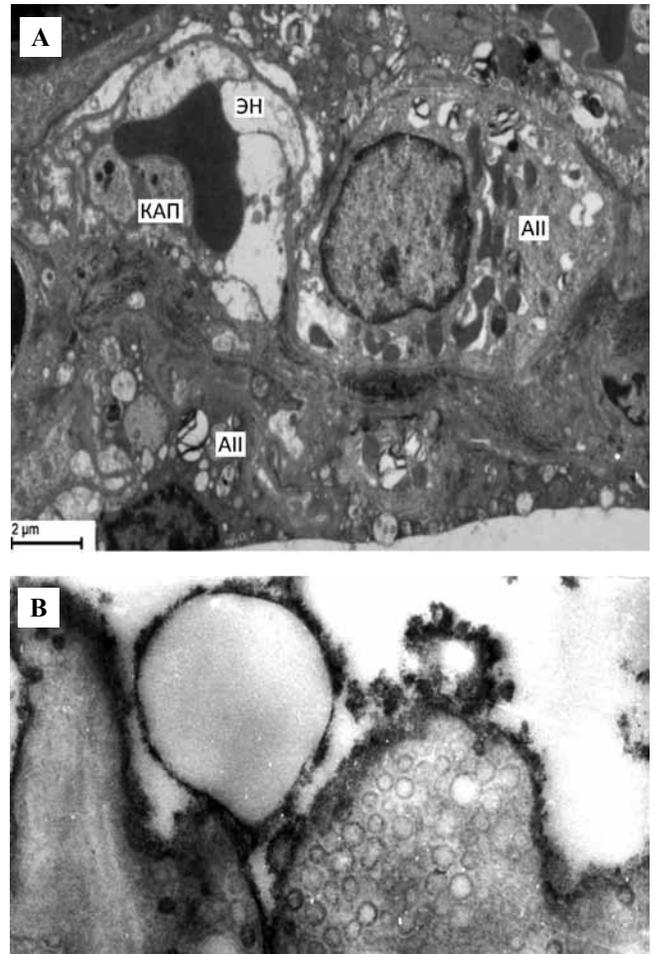


Рис. 1. Радиоиндуцированное повреждение легких, 1-е сутки.

А – выраженное набухание эндотелия (ЭН), резкое уменьшение количества органелл. В просвете капилляров (КАП) агглютинированные эритроциты и тромбоциты. Альвеолоциты второго типа (АII) относительно сохранны. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ), $\times 15\ 000$.

В – пиноцитоз в эндотелии капилляров межальвеолярных перегородок. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ), $\times 60\ 000$

Fig. 1. Radio-induced lung damage, day 1.

A – marked swelling of the endothelium (ЭН), a sharp decrease in the organelle number. Agglutinated red blood cells and platelets are found in the capillary lumen (КАП). Alveolocytes type II (АII) are relatively intact. Transmission electron microscopy (TEM), $\times 15\ 000$.

B – pinocytosis in the endothelium of the capillaries of the interalveolar septa. Transmission electron microscopy (TEM), $\times 60\ 000$

фатидилглицерола (кардиолипина) на фоне некоторого увеличения общего содержания фосфолипидов.

В дальнейшем (2 недели) отмечены прогрессирующие морфологические изменения и «продвижение» лучевых альтераций в глубь легкого, то есть в дистальном по отношению к плевре направлении. Изменения бронхов и бронхиол идентифицировали уже на

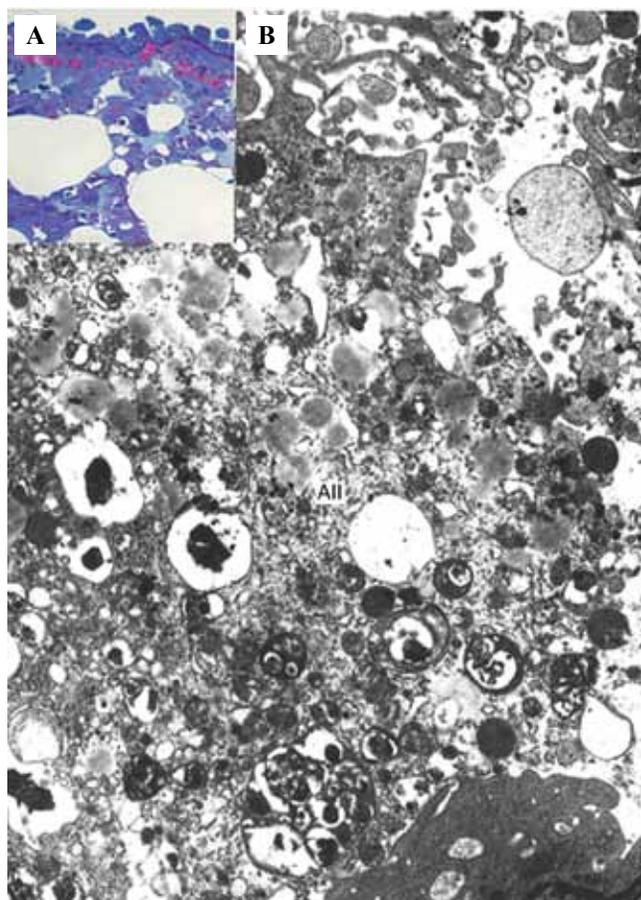


Рис. 2. Радиоиндуцированное повреждение легких, 3-и сутки. А – усиление полнокровия капилляров, прогрессирование отека и клеточной инфильтрации межальвеолярных перегородок. Полутоновый срез, окраска метиленовым синим с докраской фуксином, $\times 400$. В – фрагменты разрушенного альвеолоцита второго типа (АII) и сурфактанта в просвете альвеолы. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ), $\times 15\ 000$

Fig. 2. Radio-induced lung damage, day 3.

А – increased capillary plethora, progression of edema and cell infiltration of the interalveolar septa. Semi-thin section, stained with methylene blue with fuchsin, $\times 400$. В – fragments of the destroyed alveolocyte type II (AII) and surfactant in the alveolar lumen. Transmission electron microscopy (TEM), $\times 15\ 000$

светооптическом уровне в виде сужения, деформации и обтурации их просвета серозно-слизистым экссудатом (рис. 4). В эти сроки стали появляться первые ателектазы и дистелектазы, расположенные уже интрапульмонарно (рис. 5). Перегородки альвеол были утолщены, однако в отличие от светооптического на ультраструктурном уровне ателектаз не выглядел «полным». Просветы альвеол имели щелевидную форму, содержали клеточный детрит, а элементы аэрогематического барьера и клетки инфильтрата свободно идентифицировались. Содержание фосфолипидов было незначительно увеличено по сравнению с контролем,

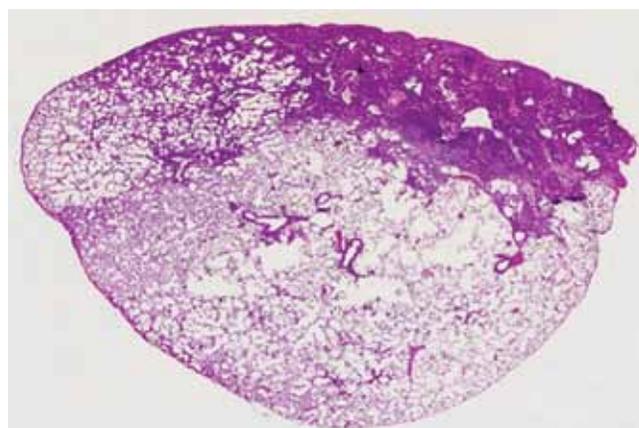


Рис. 3. Радиоиндуцированное повреждение легких, 7-е сутки. Участок ателектаза легочной ткани, расположенный субплеврально. Тотальный срез доли легкого. Окраска гематоксилином и эозином. Лупа

Fig. 3. Radio-induced lung damage, day 7. Subpleural pulmonary atelectasis. Total section of the lung lobe. H&E. Magnifier

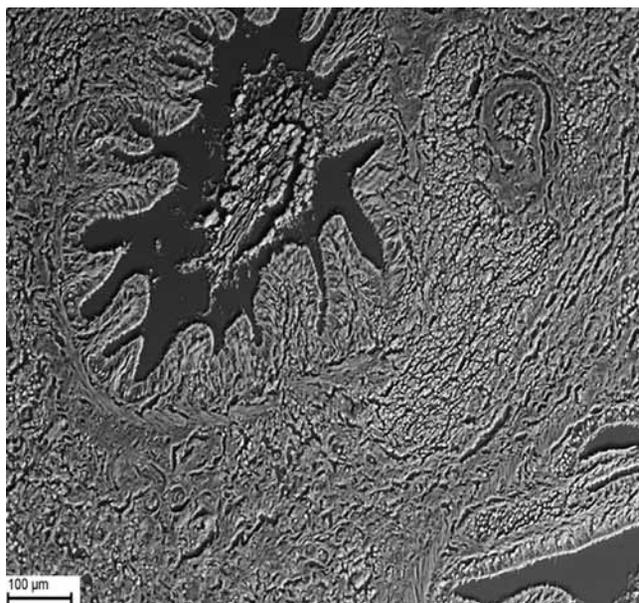


Рис. 4. Радиоиндуцированное повреждение легких, 14-е сутки. Спазм бронхиолы с формированием перибронхиолярных дистелектазов и ателектазов. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ), $\times 300$

Fig. 4. Radio-induced lung damage, day 14. Spasm of the bronchiole with the formation of peribronchiolar distelectasis and atelectasis. Transmission electron microscopy (TEM), $\times 300$

но значения фосфатидилглицерина, кардиолипина и фосфатидилэтаноламина по-прежнему были ниже контрольных.

Спустя 7 недель после начала эксперимента отмечены ослабление интерстициального отека и частичное восстановление кровообращения на уровне капилляров микроциркуляторного русла. Характерной особенностью явилось также сочетание диффузных

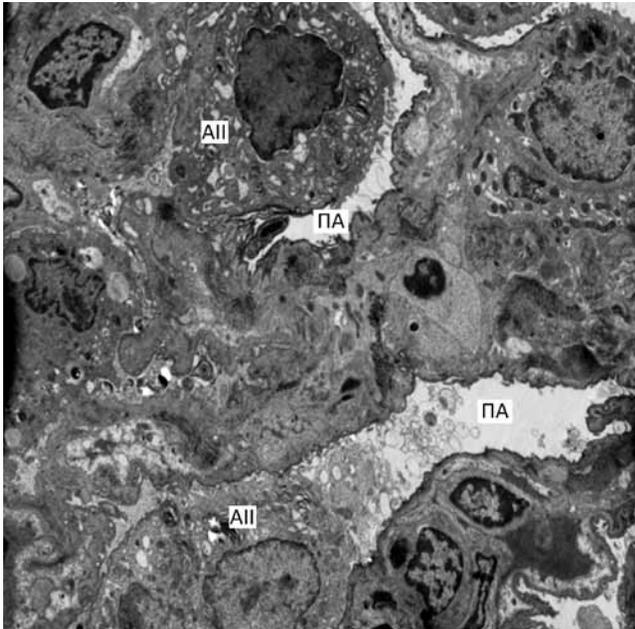


Рис. 5. Радиоиндуцированное повреждение легких, 14-е сутки. Интрапульмонарный дистелектаз. АII – альвеолоцит II типа. ПА – просвет альвеолы. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ), $\times 8660$

Fig. 5. Radio-induced lung damage, day 14. Intrapulmonary distelectasis. АII – type II alveolocyte. ПА – alveolar lumen. Transmission electron microscopy (TEM), $\times 8660$

изменений в виде усиления клеточной инфильтрации межальвеолярных перегородок и утолщения последних и очаговых изменений в виде ателектазов и дистелектазов. Важной морфологической составляющей стала идентифицируемая на полутонких срезах все более выраженная однородность клеточного инфильтрата. Электронномикроскопическое исследование подтвердило, с одной стороны, большую однородность клеточного инфильтрата, локализующегося в интерстиции и состоящего преимущественно из фибробластов, а с другой – увеличение количества коллагеновых волокон. Субплеврально на участках первоначально реализовавшихся ателектазов отмечали разрастания соединительной ткани (рис. 6), состоящей из цилиндрических коллагеновых волокон преимущественно спиральной формы, связанных между собой системой связочных волокон. Висцеральная плевро, покрывающая участок предсуществующего ателектаза, имела мелкобугристый вид. Общее содержание фосфолипидов превысило контрольные показатели (рис. 7), однако значения фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилглицерина и кардиолипина были снижены.

Заключительный этап эксперимента (13 недель) характеризовался выраженным сочетанием диффузных и очаговых изменений в виде крупноочагового (субплевральные участки) и мелкоочагового (в местах формирования интрапульмонарных ателектазов и дистелектазов) пневмофиброза. Клеточная инфильтрация

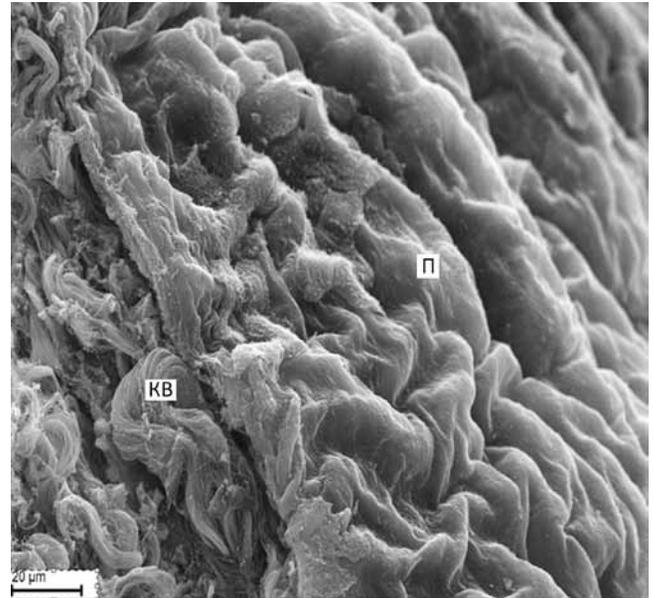


Рис. 6. Радиоиндуцированное повреждение легких, 7 недель. Соединительная ткань на участке реализовавшегося субплеврального ателектаза. КВ – коллагеновые волокна; П – плевро. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), $\times 150$

Fig. 6. Radio-induced lung damage, week 7. Connective tissue in the area of the subpleural atelectasis. КВ – collagen fibers; П – pleura. Scanning electron microscopy (SEM), $\times 150$

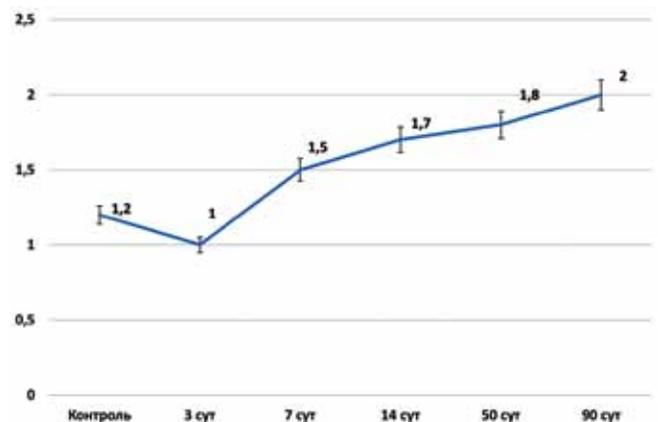


Рис. 7. Динамика содержания фосфолипидов сурфактанта в легком крыс при лучевом альвеолите

Fig. 7. Dynamics of the content of phospholipids of surfactant in the lungs in rat with radion-induced alveolitis

носила очаговый характер, проявления люминарного альвеолита были единичными. При электронномикроскопическом исследовании повсеместно обнаруживали коллагеновые волокна, заполняющие пространство между капиллярами и альвеолоцитами (рис. 8). Базальные мембраны выглядели значительно утолщенными, а эндотелиоциты и альвеолоциты атрофичными. Фракционный состав фосфолипидов сурфактанта соответствовал показателям контрольной группы, за исключением фосфатидилэтаноламина, фосфатидилглицерина

Динамика изменения состава фосфолипидов сурфактанта легкого крыс при лучевом альвеолите
The dynamics of the surfactant phospholipidic composition in rats with radiation-induced alveolitis

Показатель / Indicator	Контрольная группа / Control group (n – 6)	Сроки, сутки / Timing, days				
		3-и (n – 10)	7-е (n – 11)	14-е (n – 11)	50-е (n – 11)	90-е (n – 11)
Старт, % Start, %	0,5±0,07	0,4±0,06	0,6±0,03	0,5±0,06	0,3±0,05*	0,5±0,07
ЛФХ, % LPC, %	0,6±0,07	1,5±0,09***	1,6±0,11***	0,4±0,03*	0,5±0,09	0,6±0,08
СМ, % SM, %	1,7±0,11	1,4±0,06	2,1±0,11*	1,4±0,19	1,5±0,02	1,6±0,04
ФС + ФИ, % PS + PI, %	1,8±0,14	1,4±0,18	4,7±0,29***	2,0±0,11	2,3±0,13*	2,0±0,15
ФХ, % PC, %	78,5±0,19	83,3±0,26***	80,6±0,19***	81,6±0,52***	83,8±0,17***	85,2±0,30***
ФЭ, % PE, %	4,2±0,10	3,6±0,17	3,5±0,21**	3,7±0,14*	3,8±0,03**	3,6±0,07***
ФГл + Кл, % PG + CL, %	9,1±0,35	5,2±0,02***	4,1±0,09***	7,8±0,21**	6,2±0,08***	5,2±0,24***
НФЛ, % UPL, %	3,6±0,09	2,1±0,04***	1,8±0,09***	2,3±0,05***	2,1±0,04***	1,8±0,03***

ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СМ – сфингомиелин, ФС – фосфатидилсерин, ФИ – фосфатидилинозит, ФХ – фосфатидилхолин, ФЭ – фосфатидилэтанолламин, ФГл – фосфатидилглицерин, Кл – кардиолипид, НФЛ – неидентифицированные фосфолипиды.

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001 по сравнению с контрольной группой

LPC – lysophosphatidylcholine, SM – sphingomyelin, PS – phosphatidylserine, PI – phosphatidylinositol, PC – phosphatidylcholine, PE – phosphatidylethanolamine, PG – phosphatidylglycerol, CL – cardiolipin, UPL – unidentified phospholipids.

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001 compared to the control group

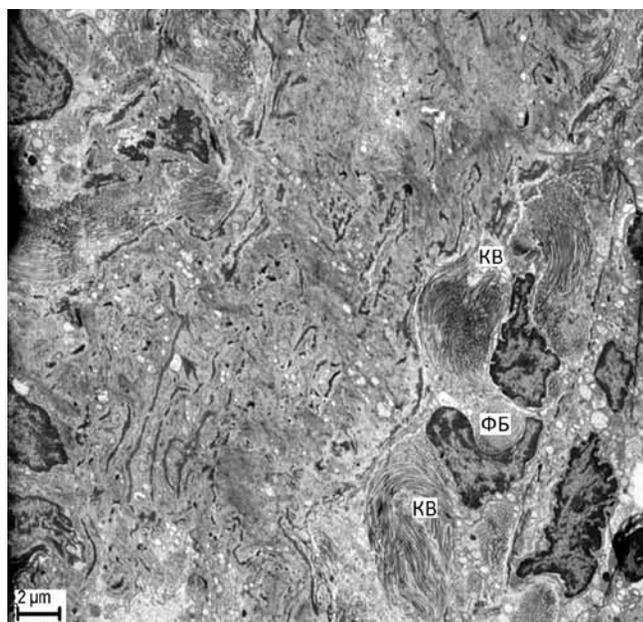


Рис. 8. Радиоиндуцированное повреждение легких, 13 недель. Интрапультарный ателектаз. КВ – коллагеновые волокна, ФБ – фибробласты. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ), ×7470

Fig. 8. Radio-induced lung damage, week 13. Intrapulmonary atelectasis. КВ – collagen fibers, ФБ – fibroblasts. Transmission electron microscopy (TEM), ×7470

и кардиолипина, содержание которых было сниженным в течение всего эксперимента и не нормализовалось (табл. 1).

В результате проведенного исследования установлено, что для развития ателектазов необходимо определенное время с начала эксперимента, то есть наличие весьма непродолжительного, недельного латентного периода, в который происходит формирование фоновых изменений в легочной ткани, обуславливающих дальнейшее формирование ателектазов и дистелектазов. К таковым относятся инициальное повреждение эндотелия кровеносных капилляров, реализующееся в выраженные расстройства кровообращения, развитие в результате отека интерстиция альвеолярно-капиллярного блока, повреждение альвеолоцитов второго типа и разрушение сурфактанта. Отмечена определенная закономерность развития ателектазов и дистелектазов, первоначально субплеврально (7-е сутки) и далее интрапультарно. Полученные данные дают основание предполагать, что ателектазы, возникающие на субплевральных участках легочной ткани, своим происхождением обязаны дефициту сурфактанта, разрушающегося как под влиянием ионизирующего излучения (радиолиз воды, поток активных радикалов кислорода), так и вследствие гипоксии, развивающейся на фоне расстройств кровообращения. Это подтверж-

Таблица 2 / Table 2

Динамика изменений межальвеолярных перегородок, эпителиальной выстилки бронхиол и ядер эпителиоцитов в контрольной группе и в разные сроки после воздействия ионизирующего излучения

Dynamics of changes in the interalveolar septa, epithelial bronchiolar lining and nuclei of epithelial cells in the control group and at different times after ionizing radiation exposure

Показатель / Indicator	Контрольная группа / Control group	Сроки, сутки / Timing, days			
		7-е	14-е	50-е	
Средняя толщина межальвеолярных перегородок Average thickness of the interalveolar septa	n	37	35	33	36
	μm	5,64±0,54	12,23±1,30	15,01±1,93	18,67±2,29
	p ₁	–	0,000014	0,000015	0,000001
	p ₂	–	–	0,236555	0,017054
	p ₃	–	–	–	0,226014
Средняя толщина эпителиальной выстилки бронхиол Average thickness of the epithelial lining of the bronchioles	n	157	153	154	157
	μm	13,82±0,90	21,48±7,33	59,36±3,56	47,61±2,74
	p ₁	–	0,300444	0,000000	0,000000
	p ₂	–	–	0,000005	0,000944
	p ₃	–	–	–	0,009347
Средний диаметр ядер эпителиоцитов бронхиол Average diameter of the nuclei of the epithelial cells of bronchioles	n	254	259	263	275
	μm	4,16 ± 0,11	4,74±0,01	7,46±1,55	7,56±0,17
	p ₁	–	0,000000	0,034173	0,000000
	p ₂	–	–	0,079883	0,000000
	p ₃	–	–	–	0,948889

p₁ – по сравнению с контрольной группой, p₂ – по сравнению с результатами на 7-е сутки, p₃ – по сравнению с результатами на 14-е сутки

p₁ – compared to the control group, p₂ – in comparison with day 7, p₃ – in comparison with day 14

дается и уменьшением содержания фосфолипидов ЛС, наблюдаемым в первые трое суток после облучения, и отсутствием осязаемых изменений в воздухопроводящих путях. Возникновение ателектазов, по-видимому, сопряжено не только с уменьшением общего содержания фосфолипидов, обеспечивающих, в частности, отсутствие слипания альвеол в конце выдоха, но и с нарушением соотношения отдельных фракций фосфолипидов [15]. В дальнейшем возникают изменения в бронхах и бронхиолах, выражающиеся в утолщении эпителиальной выстилки за счет увеличения в объеме как самих эпителиоцитов, так и их ядер, формировании серозно-слизистого экссудата, что проявляется уменьшением их просвета и подтверждено морфометрически (табл. 2).

Исходя из этого, развитие ателектазов и дистелектазов, локализующихся интрапульмонарно, по-видимому, обусловлено совместной реализацией как минимум трех факторов – прогрессирующим утолщением межальвеолярных перегородок, разрушением сурфактанта и усилением эффекта обтурационного механизма. Постепенно в развитии ателектазов становится ощутимым влияние еще одного фактора, усиливающего сужение просвета бронхов и бронхиол. Это бронхобронхиолоконстрикция, возникающая спустя 2 недели после начала эксперимента. В результате

секреции активированными макрофагами фосфолипиды А2 происходит высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов. Свободная арахидоновая кислота быстро метаболизируется, превращаясь в высокоактивные соединения – простагландины и тромбоксаны, а по липооксигеназному пути ведет к синтезу сульфидопептидных лейкотриенов, обладающих выраженным бронхо- и бронхиолоконстрикторным действием, вызывающих отек слизистой оболочки, нарушение мукоцилиарного клиренса, увеличение продукции слизи [16]. Таким образом, в образовании ателектазов имеют значение названные нами быстро реализуемый фактор (разрушение сурфактанта под действием ионизирующего излучения и нарастающей гипоксии) и медленно реализуемые факторы (деструкция альвеолоцитов, нарастающая бронхобронхиолярная обструкция, бронхобронхиолоконстрикция). Первые ателектазы, появляющиеся субплеврально, по сути, монофакторные, сурфактантзависимые. Ателектазы и дистелектазы, расположенные более дистально интрапульмонарно, имеют отличительные особенности по сравнению с субплевральными монофакторными ателектазами: они значительно меньше по площади, более многочисленные и характеризуются мозаичностью расположения.

Заключение

В результате проведенного исследования изучен морфогенез ателектазов при однократном экспериментальном радиоиндуцированном воздействии. Выявлены морфологические и временные характеристики возникновения и развития субплевральных и интраплевральных ателектазов и дистелектазов. Полученные данные могут служить основой для разработки и применения пульмопротективных средств и препаратов, реализации комплекса мероприятий по профилактике ателектазов и снижению числа осложнений.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Ю.А. Кириллов.
Сбор и обработка материала – Ю.А. Кириллов, И.А. Чернов, Е.М. Малышева, С.Е. Тимофеев, Е.А. Старцева, О.А. Розенберг.
Написание текста – Ю.А. Кириллов, И.А. Чернов, Е.М. Малышева, С.Е. Тимофеев.
Редактирование – Ю.А. Кириллов, И.А. Чернов, О.А. Розенберг.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – Yu.A. Kirillov.
Collected the data and performed the analysis – Yu.A. Kirillov, I.A. Chernov, E.M. Malysheva, S.E. Timofeev, E.A. Startseva, O.A. Rozenberg.
Wrote the paper – Yu.A. Kirillov, I.A. Chernov, E.M. Malysheva, S.E. Timofeev.
Edited the manuscript – Yu.A. Kirillov, I.A. Chernov, O.A. Rozenberg.

Литература/References

1. Шляпников В.Н. Ателектаз и ателектатическая пневмония: Учебно-методическое пособие по патологической анатомии. Куйбышев, 1978. 140 с.
Shlyapnikov VN. Atelectasis and atelectatic pneumonia. Manual on pathological anatomy. Kuibyshev, 1978. 144 p. (In Russ.).
2. Чухриенко Д.П., Чухриенко Н.Д. Ателектаз легких. Киев: Здоровье, 1979. 182 с.
Chukhrienko DP, Chukhrienko ND. Atelectasis of the lungs. Kiev: Zdorov'e. 1979. 182 p. (In Russ.).
3. Woodring JH, Reed JC. Types and mechanisms of pulmonary atelectasis. J Thorac Imaging. 1996;11(2):92–108. DOI: 10.1097/00005382-199621000-00002.
4. Ерохин В.В., Романова Л.К. (ред.). Клеточная биология легких в норме и при патологии: Руководство для врачей. Москва: Медицина, 2000. С. 384–385.
Erokhin VV, Romanova LK (eds.). Cellular biology of the lungs in norm and in pathology: A guide for doctors. Moscow: Meditsina, 2000. P. 384–385 (In Russ.).
5. Чучалин А.Г. (ред.). Респираторная медицина: Руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. Т. 1. С. 317–319.
Chuchalin AG (ed.). Respiratory medicine: A guide. Moscow: GEOTAR-Media, 2007. V. 1. P. 317–319 (In Russ.).
6. Коган Е.А. Фиброзирующий альвеолит – современные аспекты проблемы. Архив патологии. 1995;57(4):5–11.
Kogan EA. Fibrosing alveolitis – current aspects of the problem. Arch Patol. 1995;57(4):5–11 (In Russ.).
7. Дубровская В.Ф., Кириллов Ю.А., Волчков В.А., Клестова О.В., Миролобова О.Ю., Шульга А.Э. и др. Модификация радиоиндуцированной патологии легких интратрахеальным введением фосфатидилхолин-холестериновых липосом. Пульмонология. 1998;2:74–78.
Dubrovskaya VF, Kirillov YuA, Volchkov VA, Klestova OV, Mirolyubova OYu, Shul'ga AE et al. Modification of radio-induced lung pathology by intratracheal administration of phosphatidylcholine-cholesterol liposomes. Pul'monologiya. 1998;2:74–78 (In Russ.).
8. Smith TA, Kirkpatrick DR, Smith S, Smith TK, Pearson T, Kailasam A et al. Radioprotective agents to prevent cellular damage due to ionizing radiation. J Transl Med. 2017;15(1):232. DOI: 10.1186/s12967-017-1338-x.
9. Abadi SHMH, Shirazi A, Alizadeh AM, Changizi V, Najafi M, Khalighfard S et al. The effect of melatonin on superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity, and malondialdehyde levels in the targeted and the non-targeted lung and heart tissues after irradiation in xenograft mice colon cancer. Curr Mol Pharmacol. 2018;11(4):326–35. DOI: 10.2174/1874467211666180830150154.
10. Yin Z, Yang G, Deng S, Wang Q. Oxidative stress levels and dynamic changes in mitochondrial gene expression in a radiation-induced lung injury model. J Radiat Res. 2019;60(2):204–14. DOI: 10.1093/jrr/rry105.
11. Judge JL, Lacy SH, Ku WY, Owens KM, Hernady E, Thatcher TH et al. The Lactate Dehydrogenase Inhibitor Gossypol Inhibits Radiation-Induced Pulmonary Fibrosis. Radiat Res. 2017;188(1):35–43. DOI: 10.1667/RR14620.1.
12. Hawkins PG, Sun Y, Dess RT, Jackson WC, Sun G, Bi N et al. Circulating microRNAs as biomarkers of radiation-induced cardiac toxicity in non-small-cell lung cancer. J Cancer Res Clin Oncol. 2019;145(6):1635–43. DOI: 10.1007/s00432-019-02903-5.
13. Carter CL, Jones JW, Farese AM, MacVittie TJ, Kane MA. Lipidomic dysregulation within the lung parenchyma following whole-thorax lung irradiation: Markers of injury, inflammation and fibrosis detected by MALDI-MSI. Sci Rep. 2017;7(1):10343. DOI: 10.1038/s41598-017-10396-w.
14. Vaskovsky VE, Kostetsky VY, Vasendin IM. A universal reagent for phospholipid analysis. J Chromatography. 1975;114(1):129–41. DOI: 10.1016/s0021-9673(00)85249-8.
15. Bangham AD. Artificial lung expanding compound (ALECtm). In: D.D. Lasic, D. Papahajopoulos (eds.). Medical applications of liposomes. Elsevier Science, 1998. P. 452–455.
16. Тюренков И.Н., Воронков А.В., Слиецианс А.А., Доркина Е.Г., Снугур Г.Л. Антиоксидантная терапия эндотелиальной дисфункции. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2013;1:14–25.
Tyurenkov IN, Voronkov AV, Slietsans AA, Dorkina EG, Snigur GL. Antioxidant therapy of endothelial dysfunction. Reviews on clinical pharmacology and drug therapy. 2013;1:14–25 (In Russ.).

Информация об авторах

Юрий Александрович Кириллов – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека; профессор кафедры патологической анатомии и судебной медицины Тюменского ГМУ.

Игорь Алексеевич Чернов – кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины Тюменского ГМУ.

Евгения Михайловна Малышева – аспирант кафедры патологической анатомии Тюменского ГМУ; заведующая патологоанатомическим отделением ГКБ № 40 ДЗМ.

Сергей Евгеньевич Тимофеев – аспирант кафедры патологической анатомии Тюменского ГМУ; врач-патологоанатом ГКБ № 40 ДЗМ.

Евгения Анатольевна Старцева – врач-патологоанатом ГКБ № 40 ДЗМ.

Олег Александрович Розенберг – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории медицинской биотехнологии РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова.

Author information

Yuri A. Kirillov – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Research Institute of Human Morphology; Professor of Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Tyumen State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0003-3555-0902>

Igor A. Chernov – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Tyumen State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0002-6475-5731>

Evgeniya M. Malysheva – Postgraduate Student, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Tyumen State Medical University; Head of the Pathology Department, City Clinical Hospital No. 40 of the Department of Health of the City of Moscow.
<https://orcid.org/0000-0003-0974-0403>

Sergei E. Timofeev – Postgraduate Student, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Tyumen State Medical University; pathologist, Pathology Department, City Clinical Hospital No. 40 of the Department of Health of the City of Moscow.
<https://orcid.org/0000-0002-7098-9024>

Evgeniya A. Startseva – pathologist, Pathology Department, City Clinical Hospital No. 40 of the Department of Health of the City of Moscow.
<https://orcid.org/0000-0001-9844-7254>

Oleg A. Rozenberg – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Medical Biotechnology Laboratories, AM Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies.
<https://orcid.org/0000-0002-4952-8936>