

Структурные и иммунопатологические сдвиги в легких на ранних этапах течения синдрома длительного раздавливания в эксперименте

К. Т. Саакян

Кафедра гистологии и НИЦ ЕрГМУ им. М. Гераци
375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: синдром длительного раздавливания, бронхолегочная ткань, иммуноцитокнины, механизмы адаптации

Во многих странах мира при санкции и финансовой поддержке ВОЗ широко разрабатывается комплекс научно-организационных мероприятий в рамках основополагающего направления "Медицина катастроф". В указанном плане весьма перспективными представляются исследования, направленные на изучение аспектов патогенеза синдрома длительного раздавливания (СДР) в плане определения характера и особенностей течения системных и органных поражений.

Согласно современным концепциям, в патогенезе органных и системных сдвигов при СДР задействованы иммунопатологические расстройства. Эти исследования наиболее последовательно проводятся на кафедре гистологии ЕрГМУ. Так, с морфогистохимических и иммуноморфологических позиций детально описаны сдвиги в органах иммуногенеза на различных этапах СДР. В то же время механизмы возникших морфологических и иммунопатологических расстройств в органах-мишенях изучены далеко не полностью.

Как известно, группа медиаторов класса иммуноцитокнинов в настоящее время рассматривается в качестве провоспалительных стресс-индуцирующих факторов. Именно поэтому не исключено, что в условиях индукции СДР цитокины играют важную роль в развитии симптомокомплекса органных и системных проявлений при данном страдании.

Целью настоящего исследования является выявление структурных изменений в бронхолегочной ткани на относительно ранних этапах течения СДР, поскольку остается неизученной роль дыхательной системы в развитии острой и хронической гипоксии, а также токсического синдрома.

Структурные сдвиги в бронхолегочной ткани сопоставлялись с результатами иммуноферментного анализа на предмет определения иммуноцитокнинов и нейрогормонов в бронхолегочной ткани, тимусе и сыворотке крови.

Материал и методы

Опыты ставились на 42 белых половозрелых мышах массой 70–80 г. Животные подразделялись на 3 группы: I – интактные (контрольная группа).

Животные I опытной группы забивались через 24 ч, а животные II опытной группы – на 7-е сутки после декомпрессии.

На специальной установке животные подвергались сдавливанию в течение 1 часа. Площадь поражения занимала внутреннюю поверхность бедра и составляла 7 см². На указанную площадь было оказано давление силой 280 кПа.

Морфологическому анализу подвергались ткани легких и тимуса всех исследованных групп, которые окрашивались гематоксилин-эозином и галлоцианином на РНК. Методом иммуноферментного анализа (Elisa) в сыворотке крови и в гомогенатах, приготовленных из тканей тимуса и легких, определялось содержание пролактина и γ -интерферона, интерлейкинов 1, 2 и 6.

Определение вышеупомянутых цитокинов осуществляли при помощи соответствующих кит-наборов производства фирмы DRG-International (США – Германия), пролактина – фирмы Microwell (США). Содержание иммуноцитокнинов выражалось в пг/мл, пролактина – нг/мл.

Планиметрический анализ осуществлялся при помощи стереометрической сетки Автандилова. Подсчету подлежали лимфоциты и макрофаги перибронхиоларных и периаальвеоларных клеточных инфильтратов. Статистический анализ проводился с использованием критериев Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Через 24 ч после декомпрессии задней конечности

(I опытная группа) просвет отдельных мелких бронхов и бронхиол выглядел неравномерно расширенным или, наоборот, резко суженным. Именно в этих бронхах и бронхиолах наблюдались признаки дистрофии и распада кубического эпителия со сдуванием его в просвет, в котором также выявлялась гомогенная эозинофильная масса с характерной локализацией по периметру слизистой оболочки бронхов (рис. 1а).

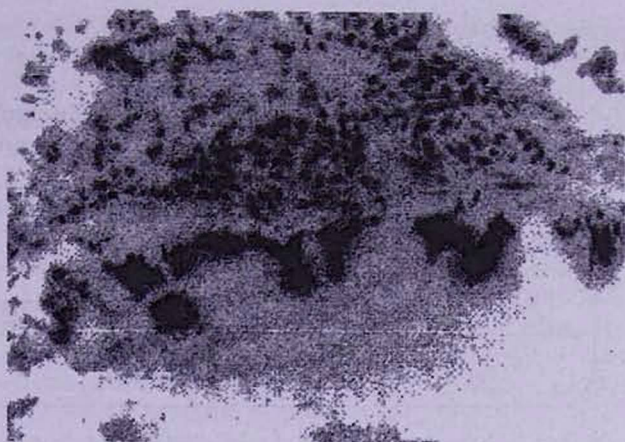
Цитоангиоархитектоника собственно респираторного отдела легких нарушена. Повсеместно происходило утолщение межальвеолярных перегородок за счет отека стромы и лимфомакрофагальной инфильтрации. Среди клеток инфильтрата встречались также единичные нейтрофильные и эозинофильные лейкоциты. Выстилающие полости альвеол эпителиальные клетки находились в состоянии дистрофии и распада. Весьма характерным является чередование "эмфизематозных" и "ателектатических" участков (рис. 1 б).

Через 7 суток после однократной декомпрессии задних конечностей подопытных животных (II опытная группа) цитоархитектоника в конечных отделах бронхиального дерева легких нарушена. Почти во всех конечных бронхах и респираторных бронхиолах четко прослеживались признаки дискомплексации, вакуолизации, распада и десквамации кубического эпителия со сдуванием его в просвет бронхов. В веноулярном отделе четко прослеживаются процессы дистрофии эндотелия, плазморрагии. В периваскулярных (перикапиллярных) участках обнаруживались лимфоцитарно-макрофагальные скопления (рис. 2а).

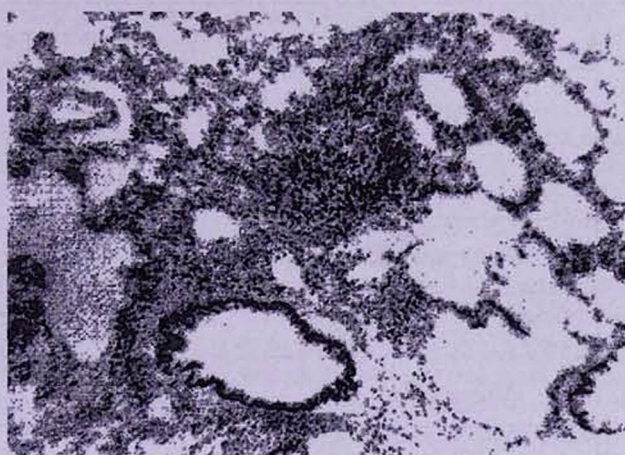
Особо следует отметить, что через 24 часа и на 7-е сутки наблюдения в перибронхиолярных участках выявлялись обильные клеточные инфильтраты, по своей структурной организации начинающие напоминать фолликулярный аппарат селезенки и лимфатических узлов. Полиморфный состав инфильтрата характеризуется одновременным наличием клеток лимфоцитарного и макрофагального ряда, эозинофильных лейкоцитов. Среди клеток лимфоцитарного ряда весьма часто встречаются бластные формы лимфоцитов (рис. 2б).

При сопоставлении показателей площадей, приходящихся на лимфоциты и макрофаги, было установлено, что через 24 ч после декомпрессии их параметры оказались равными (лимфоциты – 29.5 ± 3.3 , макрофаги – 37.1 ± 4.2 усл. ед.). На 7-е сутки течения краш-синдрома содержание лимфоцитов по сравнению с I опытной группой заметно возросло, превышая исходный показатель площади в 1.8 раза (количество точек, случайно совпавших с лимфоцитами, составляло 53.6 ± 8.9).

Одновременно имело место понижение показателей площадей, характеризующих распределение макрофагов инфильтрата (показатель площадей макрофагов составлял 23.4 ± 4.7).



а



б

Рис.1. Структурные сдвиги в бронхолегочном аппарате через 24 ч после декомпрессии задней конечности мышей. Гематоксилин-эозин: а– признаки дистрофии и распада кубического эпителия с его сдуванием в просвет бронхиолы. Об. 10, ок. 10; б– утолщение межальвеолярных перегородок за счет отека стромы и умеренной лимфомакрофагальной инфильтрации. Чередование эмфизематозных и ателектатических участков. Об. 40, ок. 10.

Так, если инфильтраты через 24 ч после сдавливания были представлены макрофагами и лимфоцитами, то на 7-е сутки наблюдения инфильтраты носили преимущественно лимфоцитарный характер.

Результаты проведенного иммуноферментного анализа представлены в таблице.

Сдвиги в содержании иммуоцитокінов и пролактина в легких, тимусе и сыворотке крови мышей на ранних этапах течения СДР

Объект исследования	Контроль	24 ч	7 дней
Интерлейкин -1 (IL-1), пг/мл			
Сыворотка	2.4±0.7	3.1±0.2 p<0.01	1.3±0.3 p<0.01
Тимус	131.2±14.1	30.6±2.9 p<0.01	14.8±3.1 p<0.01
Легкое	46.7±3.4	179.9±19.6 p<0.01	96.3±12.4 p<0.01
Интерлейкин -2 (IL-2) пг/мл			
Сыворотка	232.0±17.6	486.4±27.6 p<0.01	949.4±124.1 p<0.01
Тимус	6543.0±182.3	1985.2±193.6 p<0.01	1175.9±196.6 p<0.01
Легкое	631.4±34.4	166.7±164.5 p<0.01	1161.8±89.45 p<0.01
Интерлейкин -6 (IL-6) пг/мл			
Сыворотка	1661.0±109.9	290.7±25.3 p<0.01	295.7±23.7 p<0.01
Тимус	1013.0±51.0	85.45±9.1 p<0.01	433.1±12.9 p<0.01
Легкое	11.7±1.6	22.8±1.75 p<0.01	202.8±25.5 p<0.01
Интерферон (γ -IFN) пг/мл			
Сыворотка	6.4±0.5	0.3±0.09 p<0.01	3.3±0.7 p<0.01
Тимус	16.2±2.6	5.5±0.5 p<0.01	11.4±1.3 p>0.05
Легкое	19.4±2.3	5.7±0.9 p<0.01	22.5±2.1 p<0.01
Пролактин, нг/мл			
Сыворотка	5.3±1.2	1.9±0.5 p<0.01	1.1±0.2 p<0.01
Тимус	0.1±0.03	2.5±0.15 p<0.01	0.8±0.1 p<0.01
Легкое	3.4±1.0	1.2±0.25 p>0.5	10.7±1.0 p<0.01

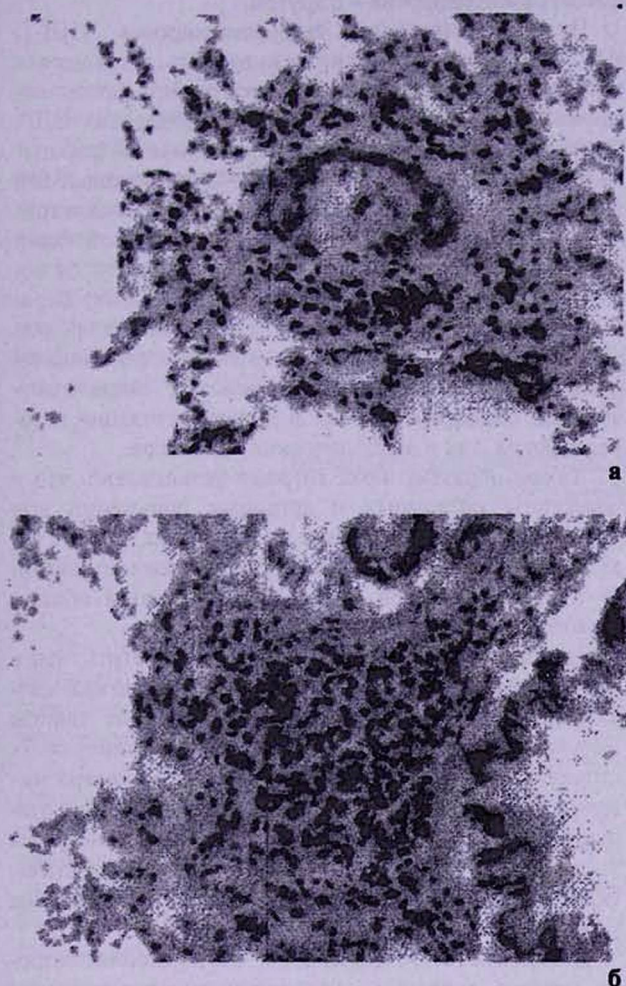


Рис.2. Структурные сдвиги в легких на 7-е сутки после декомпрессии задней конечности мышей. Гематоксилин-эозин. Об. 40, ок. 10. а– процессы дистрофии эндотелиоцитов, плазморрагии. Умеренный периваскулярный отек и лимфоцитарная инфильтрация; б– выраженная перибронхиальная инфильтрация клетками лимфоцитарного и макрофагального ряда.

В легких мышей опытной группы в относительно ранний период течения СДР (через 24 ч и на 7-е сутки) определялся высокий уровень ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6. Так, содержание ИЛ-1, ИЛ-2 через сутки превышало контрольный уровень в 3 раза, а на 7-е сутки – в 2 раза. Через 24 ч четко прослеживается тенденция к повышению ИЛ-6, а на 7-е сутки наблюдения были зарегистрированы его высокие показатели, превышающие контрольные почти в 17 раз. Уровень γ -интерферона через 24 ч снижался почти в 4 раза, а на 7-е сутки эксперимента содержание указанного медиатора восстанавливалось. Следует отметить, что

уровень ИЛ-1 в сыворотке крови мышей опытной группы практически не отличался от контрольной. В то же время обнаружена прямая корреляционная зависимость между высоким уровнем ИЛ-2 и ИЛ-6 в легких и в сыворотке крови. Как известно, интерлейкины 1, 2, 6 согласно существующим концепциям относятся к категории провоспалительных биологически активных веществ, а γ -интерферон – к медиаторам адаптационного спектра действия [1–4].

Каковы же возможные механизмы, лежащие в основе структурно-функциональных сдвигов, обуславливающие вышеуказанные сдвиги в медиаторном звене иммуногенеза? Не исключено, что высокий уровень ИЛ-1 в легких и низкий уровень ИЛ-1 в сыворотке крови обусловлены процессами их местного синтеза в бронхолегочной ткани мышей, подвергнутых компрессии. В пользу данного обстоятельства свидетельствуют также результаты иммуноферментного анализа на предмет определения ИЛ-1, 2 и 6 в тимусе. Так, на протяжении всего эксперимента содержание указанных цитокинов резко понижается.

Таким образом, проведенный сравнительный анализ позволяет сделать заключение, согласно которому источником повышенного синтеза ИЛ-1, ИЛ-2 и ИЛ-6 в легких является не центральный орган иммуногенеза, а клетки лимфоцитарного и макрофагального ряда, формирующие фолликулоподобные структуры в перибронхиальной легочной ткани. В пользу выдвинутого предположения, помимо показателей указанных иммуноцитокинов в тимусе, свидетельствует также их низкий уровень в периферических органах иммуногенеза (в селезенке и лимфатических узлах).

В настоящее время установлено, что вырабатываемый в лимфоцитах γ -интерферон вызывает ингибирование катаболических процессов, активацию Т-хелперов. Считается также, что γ -интерферон принимает активное участие в формировании противоинфекционного иммунитета [5, 6].

Как показали результаты иммуноферментного анализа в условиях нормализации уровня γ -интерферона в легких, на 7-е сутки наблюдения в сыворотке крови и в тимусе определялись весьма низкие его показатели. Именно поэтому восстановление уровня γ -интерферона следует рассматривать в качестве весьма благоприятного признака, отражающего процесс ремоделирования в легких – в плане раннего формирования адаптивных реакций.

Считаем целесообразным интерпретацию полученных данных проводить с учетом нейроэндокринных сдвигов, поскольку в настоящее время установлены конкретные функциональные петли нейроэндокринной и иммунной взаиморегуляции и взаимообусловленности. В указанном плане в первую очередь представлялось необходимым сопоставить полученные нами данные иммуноцитокинового состава в органах и тканях со сдвигами пролактина, поскольку в настоя-

щее время из всех известных нейромедиаторов именно пролактину отводится ведущая роль в процессах направленной модуляции и синтеза иммуноцитоклинов [8–13]. Более того, в исследованиях последних лет установлено, что в качестве источника пролактина, помимо гипофиза, могут выступать сердце, эндотелий, женские и мужские половые клетки и, особенно, лимфоциты [14–18]. В последнем случае “лимфоцитарный” пролактин относится к цитокинам. Установлено также, что вырабатываемый Т-хелперами пролактин в тех же клеточных популяциях (Т-хелперы) активирует процессы направленного синтеза γ -интерферона и ИЛ-2. В последнем случае усиленный синтез ИЛ-2 приводит конкретно к пролиферации в основном данного клона лимфоцитов. Именно поэтому последующим этапом наших исследований послужил иммуноферментный анализ на предмет определения пролактина. Как показали результаты исследования, содержание пролактина в сыворотке крови мышей обеих опытных групп резко снижалось: через 24 ч после декомпрессии почти в 3 раза, а на 7-е сутки эксперимента почти в 7 раз. Низкий уровень пролактина (более чем в 3 раза ниже контрольных величин) определялся также в легких мышей первой опытной группы. Однако на 7-е сутки эксперимента в легких был зарегистрирован довольно высокий уровень указанного нейрогормона, который почти в 3 раза превышал таковой у мышей контрольной группы. Определенный интерес, на наш взгляд, представляют данные иммуноферментного анализа по определению содержания пролактина в тимусе мышей контрольной и подопытных групп. Следует особо отметить, что в условиях односторонней компрессии в обеих опытных группах определялся довольно высокий уровень пролактина.

Выявленные нами сдвиги иммуноцитоклинов в легких, скорее всего, опосредуются не гипофизарным, а лимфоцитарным пролактином, поскольку на определенном этапе течения СДР происходило увеличение его содержания как в тимусе, так и в бронхолегочной ткани. В то же время известно, что пролактин стимулирует синтез ИЛ-2 и γ -интерферона. При анализе собственных данных в тимусе экспериментальных животных удалось установить корреляционную зави-

симость между уровнем пролактина, с одной стороны, и ИЛ-2, γ -интерферона – с другой.

Провоспалительным иммуноцитоклинам (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6) принадлежит важная роль в процессах структурно-функциональной перестройки бронхолегочной ткани на ранних этапах формирования СДР. Сравнительный анализ иммуноцитоклинов, вырабатываемых в тимусе со структурно-функциональными изменениями в легких, позволил сделать вывод о том, что процесс ремоделирования бронхолегочной ткани на конкретных этапах СДР во многом зависит от количественного и качественного состава местно вырабатываемых иммуноцитоклинов, а возможно, и пролактина. Именно этим и обуславливается выявленный нами структурный симптомокомплекс, свидетельствующий одновременно как в пользу активации каталитических, так и анаболических процессов.

Таким образом, нами впервые установлено, что в патогенезе системных и органических поражений при СДР иммунопатологические расстройства играют ведущую роль благодаря именно направленному синтезу иммуноцитоклинов провоспалительного и общего адаптогенного спектра действия.

В указанном плане следует особо отметить, что в ранний период течения краш-синдрома в легких имели место структурные и иммунологические сдвиги, выражающиеся в формировании фолликулоподобных структур с местным синтезом широкого спектра иммуноцитоклинов. В то же время именно на ранних этапах течения краш-синдрома в органах иммуногенеза весьма четко прослеживались сдвиги гипопластического характера, сопровождающиеся значительным угнетением в них синтеза иммуноцитоклинов.

Учитывая то обстоятельство, что в условиях острого стресса различной этиологии гипопластические реакции в органах иммуногенеза в основном обусловлены процессами миграции лимфоидных элементов из тимуса, можно допустить, что обнаруженные нами структурно-функциональные сдвиги в легких носят скорее всего защитно-приспособительный характер, направленный на восстановление иммунного гомеостаза.

Поступила 13.02.02

Թորքերում կառուցվածքային եւ իմունաֆարանական տեղաշարժերը՝ փորձարարական կրաշ-համախտանիշի վաղ շրջանում

Կ.Տ. Սահակյան

Հետազոտությունների արդյունքները հաստատում են բրոնխաթորքային հյուսվածքի կառուցվածքաֆունկցիոնալ փոփոխման պրոցեսում բորբոքմանը նպաստող իմունաֆարանականների (ԻԼ-1, ԻԼ-2, ԻԼ-6) կարևոր դերը՝ կրաշ-համախտանիշի առաջացման վաղ շրջանում:

Թիմուսում արտադրվող իմունաֆարանականների և թորքերում տեղի ունեցող կառուցվածքաֆունկցիոնալ փոփոխությունների համեմատական վերլուծությունը հանգեցնում է այն եզրակացության, որ կրաշ-

համախտանիշի որոշակի փուլերում բրոնխաթորքային հյուսվածքի ռեմոդելավորումը հիմնականում կախված է տեղայնորեն արտադրվող իմունաֆարանականների, ինչպես նաև, ենթադրաբար, պրոլակտինի քանակական և որակական բաղադրությունից: Դրանով է պայմանավորվում մեր ուսումնասիրություններով բացահայտված կառուցվածքային համախտանիշը, որը միաժամանակ վկայում է ինչպես կատարյալ, այնպես էլ անարդյունավետ պրոցեսների ակտիվացման օգտին:

Structural and immunological shifts in lungs at early stages of crush-syndrome in experiment

K. T. Sahakyan

The structural immunomorphological changes at relatively early stages of crush-syndrome are studied. Structural changes in bronchopulmonary tissue are compared with changes in content of immunocytokines (IL-1, IL-2, IL-6, g-interferon) and hypophysis growth hormones in bronchopulmonary tissue, thymus and blood serum.

The carried out investigations have determined that pro-inflammatory immuno-cytokines (IL-1, IL-2, IL-6) have an important role in the processes of structural and functional reconstruction of bronchopulmonary tissue at early stages of crush-syndrome formation. Comparative

analysis of immunocytokines, produced in thymus with the structural and functional changes in lungs, allowed to come to the conclusion that the remodelling process of bronchopulmonary tissue at specific stages of crush-syndrome in many respects depends on the quantitative and qualitative composition of locally produced immunocytokines, and possibly, prolactin. That is just what conditions the revealed structural symptom-complex (syndrome), simultaneously testifying both to catabolic and anabolic processes activation.

Литература

1. Dinarello Ch., Thompson R. Immunol. Today, 1999, 12, 11, p. 404.
2. Cohen S., Iochida P. Mechanisms of immunopathology.
3. Hamblin A., Maini R. Clin. Immunology, 1980, p. 273.
4. Male D., Champion D., Cooke A., Owen M. Advanced Immunology. 2nd Edition, 1984.
5. Кузник Б. И., Васильев Н. В., Цыбиков Н. Н. В кн.: Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М., 1989.
6. Медуницин Н. В., Литвинов Р. И., Мороз А. М. В кн.: "Медиаторы клеточного иммунитета и межклеточного взаимодействия". М., 1980, с. 256.
7. Dardenne M., Savino W., Gagnerault M. et al. Endocrinology, 1989, 125, p. 1260.
8. Hadden J. W. Ibid, 1992, 14, p. 345.
9. Holstad M., Sandler S. J. Endocrinol., 1999, 163, 2, p. 229.
10. Richards S. M., Garman R. D., Keyes L., Kavanagh B., McPherson J. M. Cell Immunol., 1998, Mar. 15, 184, 2, p. 85.
11. Zellweger R., Wichmann M. W., Ayala A., Chaudry I. H. J. Trauma, 1998, 44, 1, p. 70.
12. Ярилин А. А., Беляков И. М. Иммунология, 1996, с. 4.
13. Clapp C., Lopez-Gomez F. J., Nava G. et al. J. Endocrinol., 1998, 158, 1, p. 134.
14. Kaminska B., Opalka M., Ciereszko R. E., Dusza L. Domest. Anim. Endocrinol., 2000, 19, 3, p. 147.
15. Matera L. Life Sci., 1996, 59, 8, p. 599.
16. Reber P. M. Am. J. Med., 1993, 95, 6, p. 637.
17. Wu G., Meininger C. J. J. Nutr., 2000, 130, 11, p. 2626.