

С.В. Антонюк,
О.С. Коцарев,
О.А. Лихолат

Дніпропетровська міська
багатопрофільна клінічна
лікарня № 4

Український державний
науково-дослідний інститут
медико-соціальних проблем
інвалідності,
м. Дніпропетровськ

Патоморфологічні зміни легень за умов тривалої дії низьких доз опромінення

Pathomorphological changes of the lungs at continuous low-dose irradiation

Цель работы: Изучение морфофункционального состояния кондуктивного и респираторного отделов легких крыс, подвергшихся длительному действию облучения в суммарной дозе 0,25 Гр.

Материалы и методы: Проведено комплексное морфологическое исследование 20 белых крыс, подвергнутых дозированному облучению (0,01Гр/сут, при мощности дозы 1,67 мГр/мин) в течение 25 суток с использованием общегистологических, морфометрических и электронно-микроскопических методов. Исследования проводили на 1-е сутки после завершения облучения. Контрольную группу составили 40 экспериментальных животных.

Результаты: Длительное воздействие низких доз радиационного облучения приводило к развитию хронического бронхита с умеренными воспалительными процессами слизистой оболочки и активации адаптационных механизмов кондуктивного и респираторного отделов легких. В респираторном отделе легких развивалась хроническая панацинарная эмфизема, дистрофически-деструктивные и атрофические изменения в аэропериментальном барьере.

Выводы: Указанные изменения носят неспецифический характер и могут быть вызваны как действием низких доз радиации, так и накоплением продуктов метаболизма вследствие высокого уровня функционирования легких.

Ключевые слова: хроническое облучение, низкие дозы, хронический бронхит, эмфизема легких.

Objective: Complex investigation of the morphofunctional state of conductive and respiratory portions of the lungs in rats after chronic low dose irradiation.

Material and Methods: Wistar male rats were exposed to total x-ray irradiation at a dose of 0.25 Gy (0.01 Gy per day at dose rate of 1.67 mGy/min) for 25 days. After that the rat lungs were examined morphologically, morphometrically and using electron microscopy at the 1st day.

Results: Chronic low-dose irradiation caused activation of the adaptive mechanism of conductive and respiratory portions of the lungs which was manifested by development of chronic bronchitis with inflammatory changes. Chronic panacinar emphysema, degenerative-destructive and compensatory-adaptive changes in the air-blood barrier developed in the respiratory portions of the lungs.

Conclusion: Morphological changes of the lungs after chronic low-dose irradiation have non-specific character and can be caused by radiation and accumulation of metabolic products followed by high level of function of the lungs.

Key words: chronic irradiation, low dose, chronic bronchitis, pulmonary emphysema.

Науково-технічний прогрес призвів до змін параметрів навколишнього середовища та появи нових чинників, які впливають на організм людини і спричиняють розвиток захворювань. Серед них значення має радіаційне забруднення, яке в зв'язку з наслідками катастрофи на Чорнобильській АЕС набуло значення екологічної катастрофи та викликало необхідність численних досліджень [1, 2].

Відомо, що високі дози опромінення, отримані за короткий термін, створюють відчутний негативний вплив на організм людини і, в тому числі, значно ушкоджують легеневу тканину, що призводить до розвитку виражених змін у формі радіаційного пневмоніту [3]. Але досі не існує визначеності відносно ефекту низь-

ких доз опромінення. Компенсаторно-приспосувальні можливості організму за умов дії низьких рівнів радіації є найменш вивченими розділами в радіобіологічних дослідженнях. Існуючі повідомлення свідчать про наявність прямої дії низьких доз іонізуючого опромінення, що зумовлює патологічні зміни гомеостазу. Ступінь порушень, які виникають в організмі, та здатність до розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій залежать від підвищення інтенсивності впливу і вихідного стану систем і органів людини. Однак окремі розробки не дають повного уявлення щодо порушень бронхолегеневої тканини та її адаптаційних можливостей за звичайних умов.

У зв'язку з цим метою нашого дослідження стало вивчення морфофункціонального стану респіраторного та кондуктивного відділів легень за умов тривалої дії низьких доз опромінення. Вибір таких доз зумовлений даними щорічних рівнів опромінення учасників ліквідації наслідків катастрофи на ЧАЕС [4].

Методика дослідження

Проведено комплексне морфологічне дослідження респіраторного відділу легень за умов тривалої дії низьких доз опромінення в експерименті на 20 білих щурах лінії Вістар вагою 150–200 г із використанням загальногістологічних, морфометричних та електронно-мікроскопічних методик.

Тварин піддавали тотальному хронічному (фракціонованому) ікс-опромінюванню (доза 0,25 Гр) протягом 25 діб з добовою дозою 0,01 Гр на рентгенівській установці РУМ-17 за технічних умов: напруга 150 кВ, сила струму 6 мА, фільтри 2,0±0,5 мм Cu, потужність 1,67 мГр/хв. Щурів контрольної групи (n=40) піддавали «вдаваному» опромінюванню з використанням свинцевого екрану в такі самі терміни, як і дослідну групу. Дослідження проводили на 1-шу добу після завершення опромінювання. Тварин виводили з експерименту після легкого ефірного наркозу шляхом перетинання червоного відділу аорти, що запобігало розвитку шоквої реакції. Легені фіксували в камері інтратрахеально 10 %-вим розчином нейтрального формаліну під тиском 15–20 мм вод. ст. і заливали парафіном; гістологічні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином за Ван-Гізеном, Меллорі в модифікації М.З. Слінченко [5].

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки легень фіксували в 2,5 %-вому розчині глютарового альдегіду та OsO₄, заливали епонарадитною смолою [6]. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікростомі УМТП-6М, контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом та досліджували в електронному мікроскопі ПЕМ-100М.

Морфометричні дослідження здійснювали за загальноприйнятою методикою [7] за допомогою системи аналізу зображення та програми Image-Pro Plus 3.0. Ви-

значали фракційні об'єми паренхіматозної тканини, повітряних просторів респіраторних бронхіол (РБ), альвеолярних ходів (АХ) і мішечків (y_x) та альвеолярного повітря (y_a), ширину входу в альвеолу (a) та її глибину (b), діаметр РХ, АХ і мішечків (d) та коефіцієнти відношення альвеолярного повітря до повітряних просторів РХ, АХ і мішечків (y_a/y_x), ширини входу в альвеолу до її глибини (a/b) та діаметра РХ, АХ і мішечків до подвоєної глибини альвеоли (d/2b) (рис.1). Функціональну активність альвеолоцитів ІІ типу визначали за допомогою обчислення фракційного об'єму осміофільних пластинчастих тілець (ОПТ) в їх цитоплазмі.

Результати досліджень обробляли з використанням стандартних прийомів варіаційної статистики [8].

Результати та їх обговорення

Отримані нами дані свідчать, що навіть за умов дії низьких, і особливо субпорогових, доз радіації в легнях розвивалися зміни, які значно відрізняються від тих, що виникають під впливом опромінення великої потужності, та проявляються розвитком пневмоніту [3]. За умов низьких рівнів опромінення неоднаковими були також зміни кондуктивного та респіраторного відділів легень.

Стінки переважно середніх бронхів нерівномірно стовщувалися, в них визначалася помірна лімфогістіоцитарна та плазмоклітинна інфільтрація (рис. 2а). Слизова оболонка була стоншена, вистилаючий епітелій сплюснений, набрякла підслизова оболонка, вистелена високим війчастим епітелієм, в окремих ділянках зберігала свою структуру. У перибронхіальній тканині мали місце осередкові еозинофільні інфільтрати. Поява еозинофілів у

Таблиця 1 – Порівняльна морфометрична характеристика респіраторного відділу легень у контролі та за умов тривалої дії низьких доз опромінення
Comparative morphometric characteristics of the respiratory portion of the lungs in the controls and at continuous low-dose irradiation

Досліджуваний показник	Контроль (n=40)	Експериментальна група (n=20)
Фракційні об'єми:		
паренхіматозна тканина, %	28,59±1,73	15,95±2,43*
повітряний простір РБ, АХ та мішечків – y _x , %	24,24±2,16	44,68±1,57*
альвеолярне повітря – y _a , %	47,16±3,26	39,0±1,43*
ОПТ альвеолоцитів ІІ типу	19,47±1,89	27,35±1,63*
Ширина входу в альвеолу – a, мкм	32,34±3,5	63,5±7,71*
Глибина альвеоли – b, мкм	34,19±4,54	46,97±8,26
Діаметр РБ, АХ та мішечків – d, мкм	47,84±4,39	86,89±5,64*
y _a /y _x	1,96±0,28	0,87±0,05*
a/b	0,95±0,1	1,55±0,31*
d/2b	0,72±0,06	1,13±0,19*

Примітка. * – різниця вірогідна (p < 0,05) між контрольною групою та експериментом.

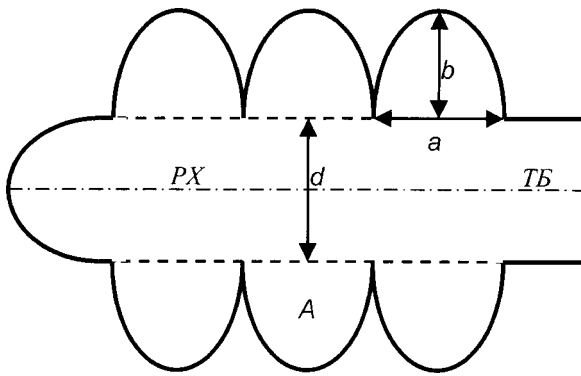


Рис. 1 – Схематичне зображення респіраторної бронхіоли легень: РХ – респіраторний хід; ТБ – термінальна бронхіола; А – альвеола; а – ширина входу в альвеолу; b – глибина альвеоли; d – діаметр респіраторної бронхіоли

Fig. 1 – The scheme of respiratory bronchiole: РХ – respiratory passage; ТБ – terminal bronchiole; А – alveole; a – the width of the entrance to the alveole; b – depth of the alveole; d – diameter of the respiratory bronchiole

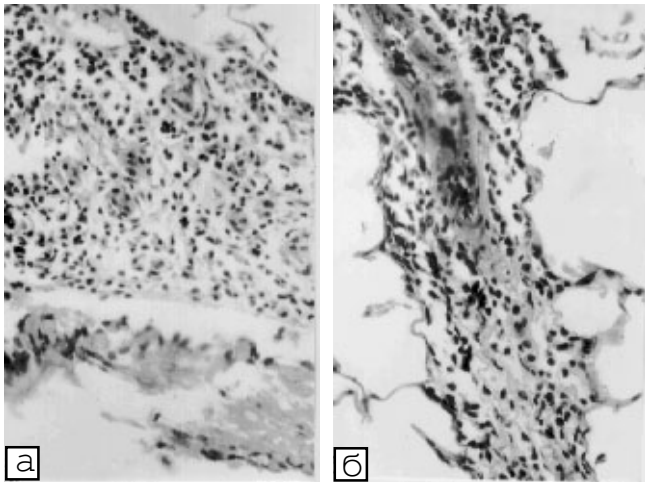
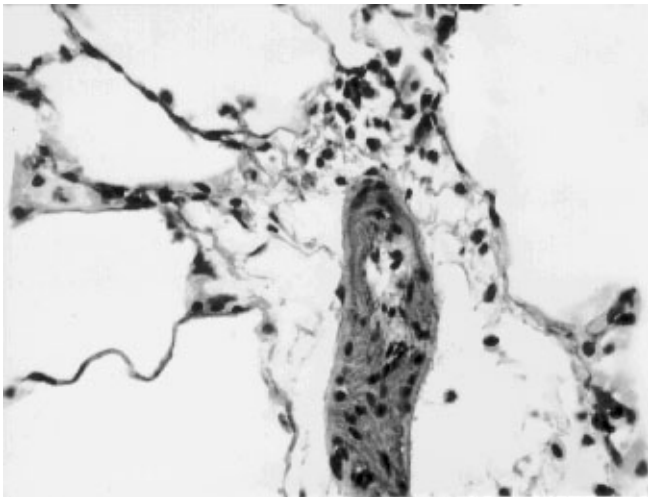


Рис. 2 – Запальні зміни: а – у бронхах; б – паренхімі легень. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 400$

Fig. 2 – Inflammatory changes: а – in the bronchi; б – lung parenchyma. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 400$

інфільтрації опосередковано свідчить про активність системи фагоцитів, які є клітинами швидкого реагування, і медіатори яких беруть участь у загальних процесах [9].

Запальні процеси в респіраторному відділі мали лише осередковий характер та проявлялися периваскулярними лімфогістіоцитарними інфільтраціями (рис. 2б) дуже незначної кількості. Визначалися порушення мікроциркуляції – повнокрів'я капілярів міжальвеолярних перегородок та стаз, а також інтерстиційний та внутріальвеолярний набряк (рис. 3а, б). Міжальвеолярні перегородки стонщувалися, в клітинах альвеолярного епітелію розвивалися дистрофічні та деструктивні зміни. В просвітку альвеол виявлялися десквамований альвеолярний епітелій та макрофаги зі світлою пінистою цитоплазмою, де містилася велика кількість судинофільних включень, що свідчить про активну участь макрофагів у метаболізмі ліпідів.

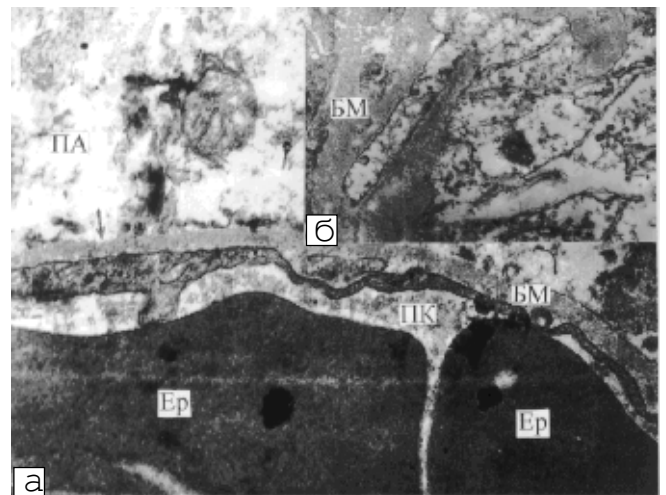


Рис. 3 – Стан аерогематичного бар'єра за умов тривалої дії низьких доз радіації: а – десквамація альвеолярного епітелію з оголенням базальної мембрани (показано стрілкою), в ПА пластівчастий матеріал, уламки клітин, просвіт капіляра (ПК), еритроцит (Ер), $\times 22000$; б – розпушення інтерстицію, $\times 20000$

Fig. 3 – The state of air-blood barriers at continuous exposure to low-dose radiation: а – desquamation of the alveolar epithelium with opened basal membrane (arrow); in the lumens of the alveoli there is plate-like material and fragments of cells, capillary lumen (ПК), erythrocyte (Ер), $\times 22000$; б – loose interstitium, $\times 20000$

Морфометричні дослідження виявили вірогідне зменшення паренхіматозної тканини (до $15,95 \pm 2,43\%$) порівняно з контролем ($28,59 \pm 1,73\%$), що видно з таблиці. Відповідно збільшувалася повітряність РХ, АХ і мішечків та альвеолярного повітря за хронічної дії випромінювання. Наведені дані свідчать про гіперповітряність легеневої тканини, тобто

пронаявність емфіземи (рис. 4), хоч паралельно траплялись і ділянки дис- та ателектазів, які на загальному фоні не мали суттєвого значення для розвитку процесу.

Проведені додаткові морфометричні дослідження дозволили визначити характер емфіземи. Повітряність легень збільшувалася переважно за рахунок розширення повітряних просторів РБ, АХ та мішечків, об'єм яких сягав $44,68 \pm 1,57\%$ (у контролі – $24,24 \pm 2,16\%$). Значно збільшувався і їхній діаметр. Однак об'єм альвеолярного повітря зменшувався, альвеоли сплющувалися, набирали П-подібної форми, різко зростала ширина входу в альвеолу та зменшувалась її глибина, про що свідчить також коефіцієнт відношення ширини входу в альвеолу до її глибини, який становив $1,55 \pm 0,31$ (в контролі $0,95 \pm 0,1$). Отже, морфометричні дані вказують на розвиток в умовах тривалого опромінювання хронічної панацинарної емфіземи із збереженням конфігурації і респіраторного відділу легень, переважним розширенням респіраторних ходів та сплюсненням альвеол.

На ультраструктурному рівні в аерогематичному бар'єрі розвивалися гемодинамічні порушення – повнокрів'я та стаз, що призводило до посилення судинної проникності й розвитку інтерстиційного і внутріальвеолярного

набряку. В ендотеліальних клітинах активізувалися газособінні процеси, які супроводжувало збільшення кількості мікропіноцитозних пухирців у клітинній цитоплазмі (рис. 5). Гемодинамічні порушення та, цілком можливо, безпосередня дія опромінювання спричиняли дистрофічні та деструктивні зміни в клітинах альвеолярного епітелію, що призводило до їх десквамації в простір альвеол та оголення базальної мембрани на значній відстані (див. рис. 3а). Найчутливішими до гемодинамічних порушень були альвеолоцити І типу. Їх цитоплазма гомогенізувалася, набувала підвищеної прозорості, розвивався перинуклеарний набряк, цитоплазматичні мембрани в окремих місцях не визначалися. Базальна мембрана стовщувалася та розріджувалася.

На фоні деструктивно-десквамативних змін клітин епітелію, що залишилися неушкодженими, виникали компенсаторні ознаки. В клітинах посилювалися метаболічні процеси, внутріклітинні органели зазнавали гіпертрофії. Альвеолоцити І типу містили велику кількість мікропіноцитозних пухирців, цитоплазматична мембрана утворювала вітрилоподібні випини, що збільшувало площу контакту з повітрям. В альвеолоцитах ІІ типу, які є клітинним компонентом системи сурфактанту та активної його синтезують [10, 11], збільшувалася кількість

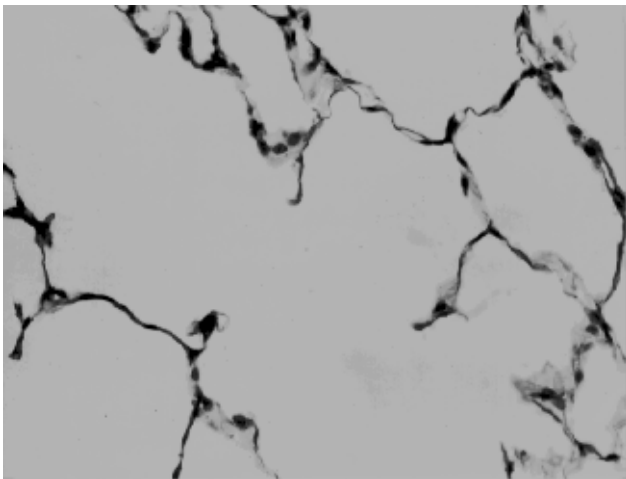


Рис. 4 – Хронічна панацинарна емфізема з різким стоншенням міжальвеолярних перегородок. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 400$

Fig. 4 – Chronic panacinar emphysema with sharp thinning of the interalveolar septa. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 400$

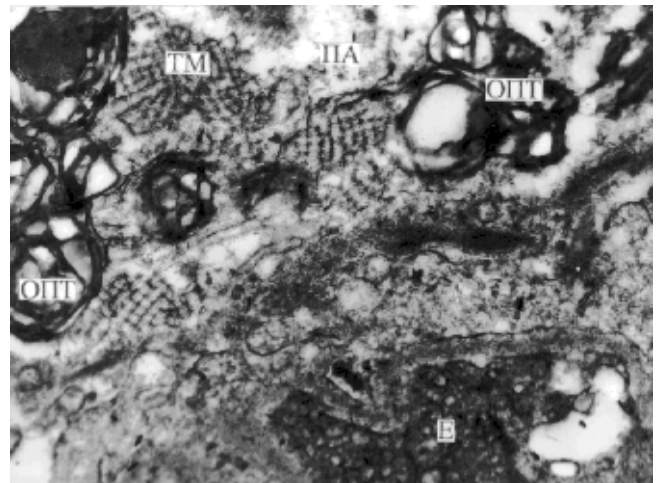


Рис. 5 – Ультраструктурні зміни аерогематичного бар'єра за умов тривалої дії низьких доз радіації. В ендотеліоцитах (Е) велика кількість мікропіноцитозних везикул, у просвітку альвеол (ПА) ОПТ, структури тубулярного мієліну (ТМ), $\times 20000$

Fig. 5 – Ultrastructure changes of air-blood barrier at exposure to low-dose radiation. In the endotheliocytes (E) there are numerous micro-pinocytotic vesicles, in the lumens of the alveoli there are osmiophilic plate-like bodies, tubular myelin structures, $\times 20000$

різних за розмірами ОПТ, їх фракційний об'єм вірогідно зростає (табл. 1); ОПТ розміщувались переважно в апікальній частині клітин, деякі з них секретували в просвіт альвеол за мерокриновим типом. У цитоплазмі клітин з'являлись мультивезикулярні тіลця, що також свідчило про високу синтетичну активність альвеолоцитів II типу. Склеротичні процеси в інтерстиції були помірними. На альвеолярній поверхні, крім макрофагів та десквамованих клітин альвеолярного епітелію, знаходились ОПТ та структури так званого тубулярного мієліну, який є однією з фаз сурфактанту на шляху від його синтезу альвеолоцитами II типу до формування поверхнево-активної ліпопротеїдної субстанції [10].

Таким чином, тривала дія низьких доз радіаційного опромінення в легенях проявляється комплексом морфологічних змін, які характеризують хронічний бронхіт з помірно запальною інфільтрацією бронхів та хронічну гангліонарну емфізему з розширенням повітряного простору респіраторної бронхіоли та дистрофічно-деструктивними змінами аерогематичного бар'єра. В основі розвитку патологічних змін лежать як специфічні механізми, зумовлені безпосередньо дією опромінення на окремі ланки патогенезу, зокрема, активацією вільнорадикальних механізмів та перекисного окиснення ліпідів [12], так і неспецифічні механізми, основу яких складають порушення окисно-відновних процесів із накопиченням шкідливих для організму продуктів, наприклад, лізосом унаслідок посилення механізмів катаболізму системи сурфактанту [13], що можуть спричинити ушкодження легеневої тканини.

Висновки

1. Тривала дія низьких доз опромінення призводить до розвитку патологічних змін як у кондуктивному, так і в респіраторному відділах легень та проявляється хронічним бронхітом з помірно вираженими процесами інфільтрації і склерозу й хронічно гангліонарною емфіземою та дистрофічно-деструктивними змінами альвеолоцитів I типу і гіпертрофією ультраструктур альвеолоцитів II типу.

2. Виявлені зміни в бронхолегеневій тканині зумовлені поєднанням неспецифічних адаптаційних реакцій легень як системи на дію патогенного чинника та специфічних реакцій окремих особливо чутливих структур на дію радіаційного випромінювання.

Література

1. Сердюк А.М. // Журн. АМН України. – 1997. – Т. 3, № 3. – С. 218–230.
2. Влияние низких доз ионизирующей радиации и других факторов окружающей среды на организм / Под ред. М.И. Руднева. – К.: Наук. думка, 1994. – 216 с.
3. Klippstein A., Braun R.K., Foerster M. et al. Radiation-associated pulmonary inflammation in non-small cell lung cancer (NSCLC) development of radiation-induced pneumonitis is accompanied by expansion of CD4+ T lymphocytes and IL-6 expression. In: Abstracts of World Congress on Lung Health and 10th ERS Annual Congress, Florence, Italy 30th August – 3th September. – Florence, 2000. – P. 641.
4. Ильин А.А., Крючков В.П., Осинев Д.П., Павлов Д.А. // Радиационная биология, радиозащита. – 1995. – Т. 35, вып. 6. – С. 803–828.
5. Микроскопическая техника: Рук-во / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
6. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища шк., 1984. – 208 с.
7. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Рук-во. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
8. Лакин Л.Ф. Биометрия. – Изд. 3-е. – М., 1990. – 293 с.
9. Van-Overveld F.J., Houben L.A., Schmitz-du-Moulin F.E. // Clin. Sci. – 1989. – Vol. 77, № 3. – P. 297–304.
10. Ерохин В.В. Функциональная морфология респираторного отдела легких. – М.: Медицина, 1987. – 272 с.
11. Нестеров Е.Н., Паневская Г.Н. // Пульмонология. – 2000. – № 3. – С. 19–25.
12. Лихолат О.А., Ананьева Т.В., Лутова Н.Б. // УРЖ. – 2000. – Т. VIII, вып. 8. – С. 265–268.
13. Неводник В.И., Коцарев О.С., Беленький И.В. // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1985. – Вып. 4. – С. 86–89.

Дата надходження: 18.06.2001.

Дата остаточного надходження: 20.05.2002.

Адреса для листування:

Антонюк Степан Васильович,
Дніпропетровська міська багатопрофільна клінічна лікарня № 4,
вул. Ближня, 31, Дніпропетровськ, 49102, Україна