

## ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В АМИНОСОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУРАХ ЛЕГКИХ В НОРМЕ И ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИРОДНЫМ ГАЗОМ

Богатых С. П., Любовцева Л. А.

*Автономное учреждение Чувашской Республики "Институт усовершенствования врачей" Министерства здравоохранения и социального развития Чувашской Республики, Чебоксары, Россия (428003, Чебоксары, Красная площадь, д. 3), e-mail: sttour@yandex.ru*

В условиях эксперимента проведено исследование биоаминсодержащих структур легких. Животные были разделены на 4 группы. Первая группа – интактные крысы, вторая – подвергалась затравке природным газом в концентрации равной 0,1 предельно-допустимой концентрации (ПДК) (30 мг/м<sup>3</sup>), третья – подвергалась затравке природным газом в концентрации ПДК (300 мг/м<sup>3</sup>), четвертая – подвергалась затравке природным газом в концентрации 10 ПДК (3000 мг/м<sup>3</sup>). Используя люминесцентно-гистохимические методы, определяли содержание нейромедиаторов в структурах легких. В легких наблюдали изменение концентрации биогенных аминов в зависимости от дозы природного газа. Наибольшее повреждающее действие природного газа приходилось на четвертую опытную группу животных и выражалось в увеличении количества дегранулировавших люминесцентно-гранулярных клеток (ГЛК), появлении диффузного свечения вокруг ГЛК, вызванного гиперпродукцией биоаминов и последующим выбросом нейромедиаторов из клетки. С увеличением дозы природного газа наблюдалось увеличение содержания фермента моноаминоксидазы (МАО) во всех исследуемых структурах. Также увеличивается выявляемость МАО-положительных нервных волокон. Характер изменений, затрагивающий легкие, говорит о деструктивном влиянии природного газа на аминсодержащие структуры легких.

Ключевые слова: легкие, природный газ, Т-лимфоциты, гранулярные люминесцирующие клетки, тучные клетки.

## DYNAMICS OF AMINE NEUROTRANSMITTERS IN THE STRUCTURES OF THE LUNGS UNDER NORMAL CONDITIONS AND AFTER EXPERIMENTAL EXPOSURE OF NATURAL GAS

Bogatykh S. P., Lubovtzeva L. A.

*The State Educational Institution "The Postgraduating Doctors' Training Institute" of the HealthCare and Social Development Ministry of the Chuvash Republic Cheboksary, Russia (428003, Cheboksary, Krasnaya sq, 3), e-mail:sttour@yandex.ru*

We have made an experiment investigated bioamino structures of the lungs. The animals were divided into 4 groups. The first group contained the intact rats, the second group was poisoned by natural gas at a concentration equal to 0.1 of maximum permissible concentration (MPC) (30 mg/m<sup>3</sup>), the third group was poisoned by natural gas at a concentration of MPC (300 mg/m<sup>3</sup>), the fourth group was poisoned by natural gas at a concentration equal of 10 MPC (3000 mg/m<sup>3</sup>). Using luminescent-histochemical methods, we determined the content of neurotransmitters in the structures of the lungs. The concentration of biogenic amines in the lungs varied, depending on the dose of natural gas. We observed the most damaging effect of natural gas in the fourth experimental group of the animals, which was reflected in the increase of luminescence-degranulated granular cells (HCA), the appearance of a diffuse glow around the HCA caused by overproduction and the subsequent release of bioamino neurotransmitters from the cell. With increasing doses of natural gas, there was the increase in the content of the enzyme monoamine oxidase (MAO) in all the investigated structures. The detection of MAO and oxidase-positive nerve fibers was also increased. The nature of the changes affecting the lungs indicates destructive influence of the natural gas on amine structure of the lungs.

Key words: lungs, natural gas, T-lymphocytes, granular, luminescent cells, mast cells.

### Введение

В последние годы отмечается рост загрязнения окружающей среды антропогенными химическими соединениями, особенно в регионах размещения предприятий, которые

выбрасывают в окружающую среду значительные количества токсических химических веществ. Заболевания легких, вызванные воздействием промышленных газообразных поллютантов, остаются актуальной проблемой профессиональной и экологической пульмонологии. Необходимость понимания процессов на уровне доклинических проявлений заболевания, связанных со снижением функциональных резервов, обеспечивающих резистентность организма к влиянию вредных факторов внешней среды, подтверждает важность изучения в пульмонологии нереспираторных функций легких [1].

Необходимость изучения метаболической функции во взаимной связи со структурными преобразованиями легочной ткани является весьма актуальной и перспективной в плане возможного использования результатов исследования при разработке комплекса профилактических мероприятий на экологически вредных производствах.

Ткани легких обильно обеспечены катехоламинами (КА) и серотонином (С), которые в основном локализуются в следующих люминесцирующих структурах: нервных волокнах, тучных клетках, макрофагах, тромбоцитах [7]. В то же время известно, что биогенные амины влияют на гомеостаз и микроокружение лимфоцитов и способствуют тому или иному направлению цитодифференцировок Т-лимфоцитов [2, 6]. Несмотря на большое количество исследований, проводимых в этой области, работ с морфологическим обоснованием патогенетических механизмов развития бронхолегочной патологии недостаточно.

**Целью** данного исследования является выявление изменений, происходящих в биоаминсодержащих структурах легких в норме и после экспериментального воздействия природным газом.

#### **Материалы и методы исследования.**

Работа представляет собой экспериментальное комплексное исследование, выполненное на 100 беспородных крысах, самцах массой 120 – 150 г., прошедших карантин в течение месяца в специальном помещении вивария и в дальнейшем находящихся на стандартном лабораторном содержании. Легкие брали в одно и то же время суток с 15 до 18 часов под глубоким эфирным наркозом. При оценке результатов экспериментов всегда учитывали время года.

Первую группу составили интактные животные (n=25), вторая подвергалась затравке природным газом, согласно ГОСТ 5542-87 в пересчете на углерод, в концентрации, равной 0,1 ПДК (30 мг/м<sup>3</sup>) (n=25), третья – в ПДК (300 мг/м<sup>3</sup>) (n=25), четвертая – в 10 ПДК. (3000 мг/м<sup>3</sup>) (n=25).

Газом воздействовали в течение 30 суток ежедневно в течение 8 часов. Лабораторные животные содержались в камерах Курляндского. Подача газа дозировалась при помощи шахтного интерферометра ШИ-11 и U-образной градуированной трубки, заполненной

дистиллированной водой.

Для выявления и количественного подсчета концентрации КА, С и гистамина (Г) использовали люминесцентно-гистохимические методы и метод цитоспектрофлуориметрии [6, 11, 12].

Окраска полихромным толуидиновым синим по А. Унна применялась для контроля состояния тканевых мукополисахаридов и гепарина в тучных клетках легких. Учитывая, что ферментативное ингибирование биоаминов осуществляется моноаминоксидазой, нами проводилась окраска на моноаминоксидазу по Гленнеру [4, 5, 6].

### **Результаты исследования и обсуждение**

Люминесцентно-гистохимическое исследование структур легких интактной группы животных выявило следующее. Наибольшая концентрация нейроаминов в ткани легких интактных крыс, определяемая спектроскопически, регистрируется в 5 группах люминесцирующих структур, что совпадало с литературными данными [7]. Первая – система адренергической иннервации бронхов, альвеол и сосудов. Определяются одиночные адренергические нервные волокна, входящие в бронхи разного калибра и в адвентиции крупных и средних сосудов. Некоторые нервные волокна проникают в мышечную оболочку бронхов. Встречаются адренергические нервные волокна, проникающие через альвеолы. Вторая – внутриальвеолярные макрофаги, встречающиеся единично, а также скоплениями в просвете альвеол и бронхов. Третья – интерстициальные макрофаги, часто встречающиеся скоплениями в интерстициальной ткани легких, в гранулах которых при спектральном анализе также определяются моноамины, имеющие ярко-оранжевую люминесценцию. Люминесцирующие макрофаги имели морфологические признаки ГЛК. У животных интактной группы альвеолы в легких темные несветящиеся, по границе альвеол располагаются полулунные, небольшого размера клетки с желтой люминесценцией – это альвеолоциты. Между отдельными альвеолами желтым цветом диффузно люминесцирует эластик. К 4 биоаминосодержащей группе относятся тучные клетки (ТК). При исследовании интактной ткани легких на гистамин обнаруживается, что число интерстициальных ГЛК больше в 1,6 раза по сравнению с выявляющимися ГЛК по предыдущему методу на моноамины. Определяются единичные ГЛК, в которых имеются как моно-, так и диамины, а кроме того, такие клетки содержат нейроспецифическую эналазу. Эти ГЛК относятся к нейроэндокринным [10]. Нейроэндокринных клеток немного: 1 клетка на 10 ГЛК. Пятая группа светящихся структур легких – тромбоциты (кровяные пластинки), обнаруживаемые группами в просвете сосудов и имеющие беловато-желтый цвет люминесценции [7].

При люминесцентно-гистохимическом исследовании структур легких после воздействия природным газом дозой в 0,1 ПДК (рис. 1, 2) наблюдается увеличение диффузности свечения фона и эластических волокон. Появляются ГЛК увеличенных размеров (до 50 мкм), и повышается число ГЛК средних размеров (до 35 мкм) со слитным свечением. Эти клетки встречаются в группах. В 1,5 раза возрастает фоновое свечение гистамина в легочной ткани и бронхах, увеличивается число интерстициальных макрофагов (табл. 1).

По адвентиции бронхов определяются ГЛК и ТК. Обнаружили расширение пространства между эндотелиоцитами и адсорбцию биогенных аминов на поверхности эндотелиальных клеток. Возможно, это связано с увеличением проникновения биогенных аминов из сосудов, поскольку данные литературы [8, 9] говорят о формировании эндотелийзависимого типа нарушения микроциркуляции. Образование продуктов свободнорадикального окисления, цитокинов, белков воспаления при воздействии природного газа приводит к развитию хронического эндотоксикоза [3].

Нами выявлено, что MAO определяется практически во всех биоаминсодержащих структурах, но особенно его много в ТК, нервных волокнах, ГЛК. При затравке газом в 0,1 ПДК содержание этого фермента изменяется мало.

При воздействии природным газом в 1 ПДК характерно увеличение числа макрофагов и уменьшение диффузного свечения паренхимы легкого. Это говорит о том, что макрофаги начинают активно инактивировать биогенные амины и, возможно, уменьшается синтез нейромедиаторов внутри клеток [2]. Также мы наблюдали увеличение размеров и числа ГЛК, расположенных по ходу нервных волокон и сосудов. При исследовании на гистамин число клеток остается повышенным, они увеличены в размере, однако, содержание гистамина в них и в интерстициальной ткани понижено. Регистрируются люминесцирующие лимфоциты, банальные макрофаги и нейтрофилы, у которых гистамин определяется только в ядре. Содержание MAO увеличивается в ТК вместе с увеличением числа этих клеток. ТК определяются и в интерстициальной ткани. MAO-положительные клетки определяются как внутри альвеол, так и в интерстициальной ткани. Их число увеличивается в 1,6 раза.

При воздействии природным газом в 10 ПДК фон межальвеолярного пространства характеризуется ярко-желтой люминесценцией, т.е. содержание моноаминов резко возрастает, по цвету и интенсивности совпадают со свечением ГЛК (рис. 3). Определяемые клетки чаще всего имеют средние и мелкие размеры с 2–3 крупными гранулами. Границы клеток становятся нечеткими, предположительно, из них происходит выброс биоаминов. Часть единичных крупных клеток имеет до 8 отчетливых гранул с очень высоким содержанием биоаминов. Эти клетки расположены в межальвеолярном пространстве.

Возможно, это макрофаги. При исследовании на Г число ГЛК еще более увеличивается, но остаются только мелкие и средних размеров клетки. Содержание гистамина в них и в интерстициальной ткани резко повышено. Наблюдается заполнение биоамиными пространств внутри альвеол. В части ГЛК люминесцирует одна-две гранулы, т.е. происходит выброс Г в межальвеолярное пространство. В большом количестве определяются люминесцирующие лимфоциты, истинные макрофаги, нейтрофилы. Увеличивается число распадающихся тучных клеток. При затравке газом в 10 ПДК содержание MAO резко увеличивается во всех исследуемых структурах, а также в нейтрофилах, моноцитах, макрофагах. Увеличивается выявляемость MAO-положительных нервных волокон. Наблюдается миграция лимфоцитов и нейтрофилов в межальвеолярное пространство. Это позволяет предположить, что реакция на воздействие природного газа схожа с аллергическим процессом и реакцией немедленного типа.

### **Заключение**

Обеспеченность нейромедиаторами, а также инактивация этих веществ в легких регулируется местной активностью MAO, функциональной активностью макрофагов и тучных клеток, а также состоянием субстанций, экранирующих и связывающих биологически активные амины – кислых гликозаминогликанов и липидов. Совокупность всех перечисленных компонентов является гомеостатирующей системой для биоаминов легочной ткани.

Реакция биоаминсодержащих структур легких на воздействие природным газом в концентрациях равных ПДК и 1ПДК становится схожей с аллергическим процессом и реакцией немедленного типа.

Образование биоаминов при альвеолярной гипоксии – важное звено в патогенезе развития многих патологических состояний органов дыхания, возникающих в местах добычи и транспортировки природного газа.

Выраженные изменения биоаминного статуса в легких при воздействии природным газом требует патогенетической медикаментозной терапии, коррегирующей нарушения с помощью лекарственных средств антиоксидантного и иммунокоррегирующего действия.

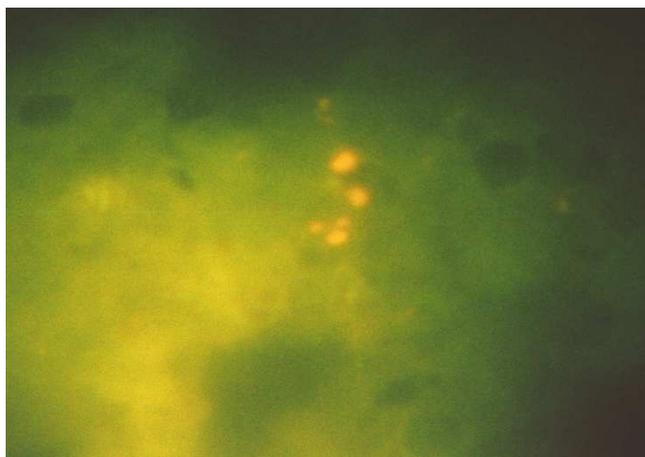


Рис. 1. Люминесценция бронхов и интерстициальных макрофагов в альвеолах легких при заправке природным газом в 0,1 ПДК. Метод Фалька. ЛЮМAM-4 Об. 40. Гомаль 1,7

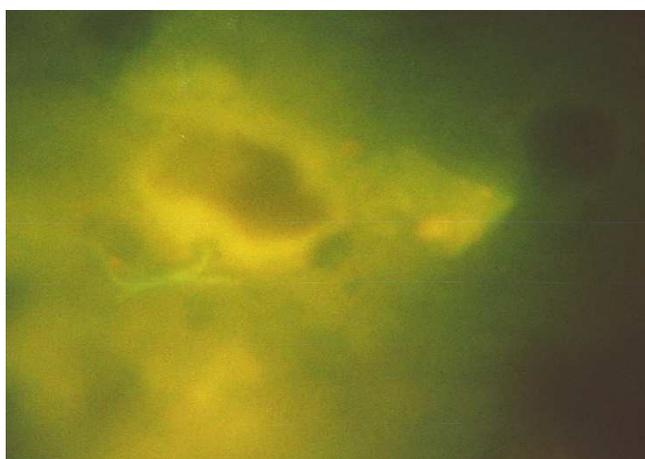


Рис.2. Люминесценция нервных волокон и сосудов легких при воздействии природным газом дозой 0,1 ПДК. Метод Фалька. ЛЮМAM-4 Об. 40. Гомаль 1,7

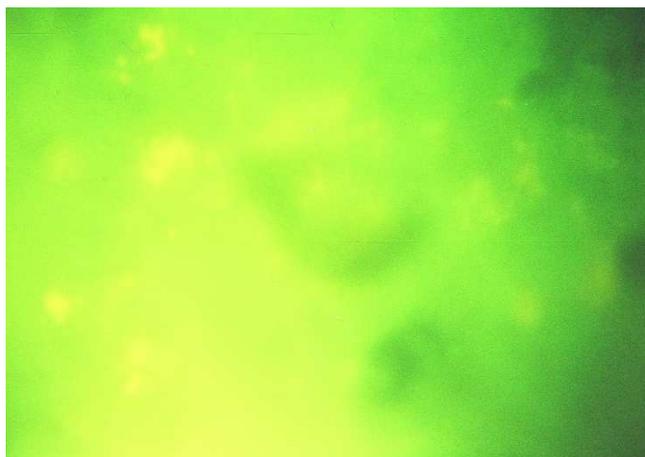


Рис.3. Люминесценция альвеол и интерстициальных макрофагов в альвеолах легких при воздействии природным газом дозой 10 ПДК. Метод Фалька. ЛЮМAM-4 Об. 40. Гомаль 1,7

Таблица 1

## Содержание биогенных аминов в структурах легких после воздействия природным газом

Структуры	Интактная группа			Опытная группа животных								
				0,1 ПДК			1 ПДК			10 ПДК		
	Г	КА	С	Г	КА	С	Г	КА	С	Г	КА	С
Альвеолярные макрофаги	121,4±	103,1±	171,8±	<b>163,1±</b>	<b>109,8±</b>	<b>183,6±</b>	<b>237,1±</b>	<i>57,1±</i>	<i>98,5±7</i>	<b>163,1±</b>	109,8±	<b>183,6±</b>
	4,5	6,5	11,5	<b>8,3</b>	<b>10,2</b>	<b>16,1</b>	<b>16,5</b>	4,3		<b>8,3</b>	10,2	<b>16,1</b>
Фон	61±3,1	67,9±	99,9±6,8	<b>89±2,8</b>	<b>100±</b>	<b>143,6±</b>	<b>184,7±</b>	<i>38,3±</i>	<i>62,3±</i>	<b>89±2,8</b>	<b>100±</b>	<b>143,6±</b>
		4,5			<b>6,9</b>	<b>10,5</b>	<b>12,3</b>	2,6	3,9		<b>6,9</b>	<b>10,5</b>
Интерстициальные макрофаги	155,7±	126,1±	207,6±	156,2±	<b>145,1±</b>	<b>229±</b>	148,7±	<i>76,9±5,</i>	<i>143,3±</i>	156,2±	<b>145,1±</b>	<b>229±</b>
	7,8	6,4	11,8	9,3	<b>14,1</b>	<b>19,8</b>	5,9	9	<i>11,7</i>	9,3	<b>14,1</b>	<b>19,8</b>
Тучные клетки	140,7±	136,1±	206,1±	<b>243±</b>	<b>176±</b>	<b>315,8±</b>	<b>254,3±</b>	<i>91,6±1</i>	<i>160,4±</i>	<b>243±</b>	<b>176±</b>	<b>315,8±</b>
	3,8	11,5	13,7	<b>8</b>	<b>18,6</b>	<b>40,2</b>	<b>6,0</b>	0,3	18,3	<b>8</b>	<b>18,6</b>	<b>40,2</b>
Нервное волокно	Нет данных	201,7±	334,7±	Нет данных	138,1±	<i>193,4±</i>	198,9±	<i>72±2,7</i>	<i>114±4,7</i>	Нет данных	138,1±	<i>193,4±</i>
		25,8	43,2		11,05	<i>15,1</i>	29,8				11,05	<i>15,1</i>

Примечание:

Курсивом обозначено снижение концентрации биогенных аминов в опытной группе в сравнении с интактной группой, жирным – увеличение.

Знаком ± обозначена амплитуда колебания цифровых значений.

## Список литературы

1. Агаджанян Н.А. Экологические аспекты бронхолегочной патологии Волжского понизовья / Н. А. Агаджанян, И. Н. Полуниин, Г. А. Трубников // Астрахань 2000. – 256 с.
2. Авакян О. М. Современные данные о механизме высвобождения и захвате катехоламинов, возможности и перспективы их фармакологической регуляции / О. М. Авакян // Журн. всесоюзн. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева. – 1986. – Т. 21. – С. 85-90.
3. Беднов, И. А. Физиологические механизмы хронического воздействия серосодержащим газом в эксперименте: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Астрахань, 2004. – 22 с.
4. Бережная Н. М. Тучные клетки и гистамин: физиологическая роль / Н. М. Бережная, Р. И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 29-38.
5. Бочкарев В. А. Возрастной спектр тучных клеток / В. А. Бочкарев, Д. С. Гордон, С. Н. Андреев // Морфология и гистохимия тканей в норме, патологии и эксперименте. – Чебоксары, 1992. – С. 98-103.
6. Любовцева Л. А. Люминесцентно-гистохимическое исследование структур костного мозга. – Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1998. – 96 с.
7. Тенюков В. В. Статус биогенных аминов тканевых структур легких в норме и эксперименте: Автореф. дисс... канд. мед. наук. – М., 1981. – 24 с.
8. Чекунова И. Ю. Сравнительная характеристика структурных компонентов и метаболических процессов в легочной ткани в норме и на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа (экспериментальное исследование): Автореф. дисс... канд. мед. наук. – Астрахань, 2010. – 23 с.
9. Шишкина, Т. А. Патогенетические механизмы нарушения микроциркуляции в легких при хроническом воздействии сероводородсодержащим газом: Автореф. дисс... канд. мед. наук. – Саратов, 2008. – 24 с.
10. Яглов В. В. Актуальные проблемы биологии диффузной эндокринной системы / Яглов В. В. // Архив АГЭ. – 1989. – Т. 96. – Вып. 1. – С. 14-25.
11. A study of the methods available for the cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde / Cross S. A., Ewen S. W., Rost F. W. // Hystochem. J. – 1971. – № 6. – P. 471-476.
12. Falk V. Fluorescence of catecholamine and related compounds condensed with formaldehyde // J. Histochem. Cytochem. – 1962. – № 10. – P. 348-354.

### Рецензенты:

Денисова Тамара Геннадьевна, доктор медицинских наук, профессор, проректор по научной работе и международным связям АУ Чувашии "Институт усовершенствования врачей" Минздравсоцразвития Чувашской Республики, г. Чебоксары.

Гурьянова Евгения Аркадьевна, доктор медицинских наук, доцент, заведующая сектором КУ "Центр ресурсного обеспечения" Министерства здравоохранения и социального развития, г. Чебоксары.