

Отчет о проверке на заимствования №1



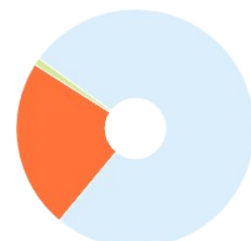
Автор: Проказина Людмила Анатольевна prokazinala@list.ru / ID: 5684
Проверяющий: Проказина Людмила Анатольевна (prokazinala@list.ru / ID: 5684)
Организация: Амурский государственный университет
 Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <http://amursu.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 512
 Начало загрузки: 25.07.2019 18:39:00
 Длительность загрузки: 00:00:54
 Имя исходного файла:
 ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
 ЗАКОНОМЕРНОСТИ РЕГЕНЕРАЦИОННОГО
 ПОТЕНЦИАЛА ЭПИТЕЛИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ
 ПУТЕЙ У ЖИВОТНЫХ РАЗЛИЧНОГО
 ВОЗРАСТА ПРИ ОБЩЕМ ОХЛАЖДЕНИИ НА
 ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПРИРОДНЫХ
 АНТИОКСИДАНТОВ (экспериментальное
 исследование) без литературы
 Размер текста: 13999 кБ
 Тип документа: Кандидатская диссертация
 Символов в тексте: 233690
 Слов в тексте: 25351
 Число предложений: 1366

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 25.07.2019 18:39:55
 Длительность проверки: 00:00:31
 Комментарии: не указано
 Модули поиска: Кольцо вузов, Модуль поиска общепотребительных выражений, Коллекция Патенты, Модуль поиска перефразирований Интернет, Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU, Коллекция Медицина, Модуль поиска Интернет, Коллекция ГАРАНТ, Коллекция eLIBRARY.RU, Модуль поиска переводных заимствований, Цитирование, Коллекция РГБ, Сводная коллекция ЭБС, Модуль выделения библиографических записей, Модуль поиска "АмГУ", Модуль поиска ИПС "Адилет"



ЗАИМСТВОВАНИЯ	ЦИТИРОВАНИЯ	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
23%	0,47%	76,53%

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Цитирования — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общепотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.
 Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
 Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
 Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.
 Заимствования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.
 Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Доля в тексте	Источник	Ссылка	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте
[01]	2,99%	4,55%	Горбунов, Михаил Михайлович диссер.	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РГБ	66	102
[02]	3,43%	3,58%	ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫ.	http://elibrary.ru	27 Мая 2019	Коллекция eLIBRARY.RU	73	78
[03]	1,54%	1,82%	Амурский медицинский журнал № 1(5)..	http://amursma.ru	08 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	13	16
[04]	0,88%	1,75%	Корнеева, Лариса Сергеевна диссертац.	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РГБ	16	34
[05]	0,59%	1,71%	https://esu.citis.ru/dissertation/HOVXDG..	https://esu.citis.ru	21 Мар 2018	Модуль поиска Интернет	14	32
[06]	0%	1,63%	Функциональная морфология мукоци..	http://emil.ru	28 Апр 2017	Коллекция Медицина	0	31
[07]	1,25%	1,62%	ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР Н.	http://elibrary.ru	03 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	14	18
[08]	0,69%	1,51%	Регенерационный потенциал слизисто..	http://netess.ru	01 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	7	11
[09]	1,33%	1,44%	ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ И ИХ ...	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	9	10
[10]	0%	1,38%	105028	http://biblioclub.ru	раньше 2011	Сводная коллекция ЭБС	0	39
[11]	0,55%	1,38%	59791	http://e.lanbook.com	раньше 2011	Сводная коллекция ЭБС	16	39
[12]	0,03%	1,36%	Морфофункциональная характери...	https://amursma.ru	13 Апр 2018	Модуль поиска Интернет	1	27
[13]	0,16%	1,07%	Полный текст	http://cfpd.amursu.ru	06 Авг 2017	Модуль поиска Интернет	4	20
[14]	0,66%	1,03%	ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ С..	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	4	6
[15]	0,61%	0,94%	СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ВОПРОС...	http://cyberleninka.ru	28 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований	4	7

						Интернет		
[16]	0%	0,94%	СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ВОПРОС...	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	0	6
[17]	0,67%	0,93%	ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ М...	http://dslib.net	08 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	4	6
[18]	0%	0,91%	ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ С...	http://elibrary.ru	29 Авг 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	0	16
[19]	0%	0,87%	Амурский медицинский журнал №1 (13...	http://amursma.ru	13 Апр 2018	Модуль поиска Интернет	0	16
[20]	0,87%	0,87%	МУКОЦИЛИАРНЫЙ КЛИРЕНС ОРГАНО...	http://cyberleninka.ru	08 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	6	6
[21]	0%	0,87%	МУКОЦИЛИАРНЫЙ КЛИРЕНС ОРГАНО...	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	0	6
[22]	0,37%	0,87%	Автореферат	http://health-family.ru	23 Мар 2018	Модуль поиска Интернет	5	12
[23]	0,12%	0,82%	Роль стволовых клеток в регенерации...	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	1	10
[24]	0,33%	0,81%	Ли, Ольга Николаевна диссертация ... к...	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РФБ	7	19
[25]	0%	0,78%	ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ И ИХ ...	http://elibrary.ru	05 Авг 2016	Коллекция eLIBRARY.RU	0	12
[26]	0%	0,76%	Жуковец, Ирина Валентиновна Станов...	http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2018	Коллекция РФБ	0	22
[27]	0,62%	0,64%	не указано	http://litru.ru	08 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	3	3
[28]	0%	0,63%	Регенерационный потенциал слизисто...	http://earthpapers.net	23 Окт 2017	Модуль поиска Интернет	0	19
[29]	0,11%	0,6%	Сравнительная эффективность синтет...	http://tgmu.ru	02 Окт 2018	Модуль поиска Интернет	3	14
[30]	0,4%	0,53%	СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И РЕПАРАТИВНАЯ.	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	2	3
[31]	0,04%	0,51%	Full text	http://cfpd.amursu.ru	11 Фев 2017	Модуль поиска Интернет	1	11
[32]	0%	0,5%	скачать полный текст выпуска	http://cfpd.amursu.ru	25 Июл 2017	Модуль поиска Интернет	0	11
[33]	0,05%	0,49%	ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ ЭПИТЕЛИЯ ТРАХ...	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	1	3
[34]	0,38%	0,49%	Реснитчатые клетки.	http://studopedia.net	01 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	1	2
[35]	0%	0,49%	СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ВОПРОС...	http://elibrary.ru	30 Авг 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	1	10
[36]	0%	0,48%	Полный текст	http://cfpd.amursu.ru	20 Ноя 2016	Модуль поиска Интернет	1	13
[37]	0,23%	0,47%	Патология органов дыхания	http://studentlibrary.ru	19 Дек 2016	Коллекция Медицина	6	13
[38]	0,11%	0,47%	ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДА...	http://cyberleninka.ru	раньше 2011	Модуль поиска Интернет	4	16
[39]	0%	0,46%	МУКОЦИЛИАРНЫЙ КЛИРЕНС ОРГАНО...	http://elibrary.ru	28 Авг 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	0	12
[40]	0%	0,46%	Горбунов, Михаил Михайлович Реген...	http://dlib.rsl.ru	13 Сен 2013	Коллекция РФБ	0	13
[41]	0,07%	0,45%	Диссертация Ли О.Н. 03.02.2016 (7/12)	http://xn--c1asqg.xn--p1ai	05 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	1	2
[42]	0,13%	0,45%	Симонова, Наталья Владимировна дис...	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РФБ	2	11
[43]	0,44%	0,44%	Гистологическое строение трахеи и бр.	http://studopedia.org	07 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	4	4
[44]	0%	0,44%	СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И РЕПАРАТИВНАЯ.	http://elibrary.ru	28 Авг 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	0	3
[45]	0,43%	0,43%	заварзин а.а. основы сравнительной г...	http://inethub.olvi.net.ua	08 Янв 2017	Модуль поиска перефразирований Интернет	2	2
[46]	0,32%	0,43%	ЭКСТРУЗИЯ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ ТРАХЕИ.	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	3	4
[47]	0,36%	0,41%	Кузеро, Виктор Олегович диссертация...	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РФБ	9	9
[48]	0,08%	0,4%	В ФОРМАТЕ FB2	http://rulit.me	27 Окт 2017	Модуль поиска Интернет	3	9
[49]	0%	0,4%	Анатомия и гистология легких Блокн...	http://ru.medik.wikia.com	12 Фев 2019	Модуль поиска Интернет	0	9
[50]	0%	0,37%	Реснитчатые клетки.	http://studopedia.net	14 Ноя 2015	Модуль поиска Интернет	0	7

[51]	0%	0,35%	ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР Н.	http://elibrary.ru	31 Авг 2017	Коллекция eLIBRARY.RU	0	7
[52]	0,04%	0,34%	Влияние настоев лекарственных расте...	https://cyberleninka.ru	25 Июл 2018	Модуль поиска Интернет	1	8
[53]	0,29%	0,33%	Гистология, эмбриология, цитология	http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Коллекция Медицина	6	7
[54]	0%	0,33%	Гистология, эмбриология, цитология	http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	7
[55]	0,09%	0,32%	http://health-family.ru/upload/iblock/21...	http://health-family.ru	15 Дек 2018	Модуль поиска Интернет	3	7
[56]	0%	0,29%	ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ ЭПИТЕЛИЯ ТРАХ...	http://elibrary.ru	16 Ноя 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	0	5
[57]	0,04%	0,28%	Литовченко, Екатерина Андреевна Фар.	http://dlib.rsl.ru	22 Фев 2019	Коллекция РГБ	3	6
[58]	0%	0,27%	Гистологическое строение трахеи и бр.	http://studepedia.org	05 Апр 2016	Модуль поиска Интернет	0	4
[59]	0%	0,26%	Исследование кардио- и гепатопротек...	http://emll.ru	21 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	6
[60]	0,17%	0,26%	Бачинский, Олег Николаевич Москва 2.	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РГБ	4	6
[61]	0,15%	0,26%	Ильченко - заключительная.docx	не указано	23 Мая 2013	Кольцо вузов	1	4
[62]	0%	0,26%	Мещеряков, Константин Николаевич С.	http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2008	Коллекция РГБ	0	6
[63]	0,05%	0,25%	Никулина, Надежда Борисовна диссер...	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РГБ	1	7
[64]	0,18%	0,25%	https://www.vij.ru/glavnaya/zashchita-d...	https://vij.ru	15 Дек 2018	Модуль поиска Интернет	4	6
[65]	0,05%	0,25%	Сборник материалов конференции Мо.	http://dalgau.ru	25 Окт 2017	Модуль поиска Интернет	2	5
[66]	0%	0,23%	Влияние антиоксидантной терапии на...	http://emll.ru	20 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	6
[67]	0,01%	0,23%	Парамонова, Нина Борисовна диссерт...	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РГБ	1	6
[68]	0%	0,23%	Роль стволовых клеток в регенерации...	http://elibrary.ru	28 Ноя 2015	Коллекция eLIBRARY.RU	0	6
[69]	0%	0,22%	Ступин, Дмитрий Андреевич Клиничес...	http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2018	Коллекция РГБ	0	6
[70]	0,09%	0,2%	Тучные клетки органов дыхания и пер...	http://elibrary.ru	02 Янв 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	1	2
[71]	0%	0,2%	Влияние настоев лекарственных расте...	http://elibrary.ru	28 Авг 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	0	3
[72]	0,04%	0,19%	Тучные клетки органов дыхания и пер...	http://elibrary.ru	27 Авг 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	1	5
[73]	0,11%	0,19%	Сластин, Сергей Сидорович Применен...	http://dlib.rsl.ru	30 Июл 2012	Коллекция РГБ	3	6
[74]	0,18%	0,18%	Постановление Правительства Амурск...	http://ivo.garant.ru	10 Янв 2018	Коллекция ГАРАНТ	4	4
[75]	0%	0,17%	Саяпина, Ирина Юрьевна эксперимен...	http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Коллекция РГБ	0	4
[76]	0%	0,16%	Использование стволовых клеток в ме...	https://vuzlit.ru	28 Мар 2019	Модуль поиска Интернет	0	3
[77]	0,13%	0,16%	Т. 4, № 4	http://emll.ru	20 Дек 2016	Коллекция Медицина	3	4
[78]	0%	0,16%	В. М. Розенталь Индивидуальное пита...	http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2005	Коллекция РГБ	0	3
[79]	0%	0,15%	Памяти Юрия Сергеевича Ландышева.	http://elibrary.ru	27 Мая 2019	Коллекция eLIBRARY.RU	1	4
[80]	0%	0,15%	Эндобронхиальная микрогеоциркул...	http://emll.ru	21 Дек 2016	Коллекция Медицина	1	4
[81]	0%	0,15%	Романов Д.А.	не указано	21 Мая 2015	Кольцо вузов	0	3
[82]	0,14%	0,14%	Структура гинекологических заболева...	http://elibrary.ru	08 Окт 2018	Коллекция eLIBRARY.RU	1	1
[83]	0,13%	0,13%	Возрастные и половые особенности св...	http://elibrary.ru	28 Авг 2014	Коллекция eLIBRARY.RU	4	4
[84]	0,03%	0,13%	ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ К...	http://elibrary.ru	16 Июл 2018	Коллекция eLIBRARY.RU	1	4
[85]	0,03%	0,13%	РОЛЬ NF-kB И ЦИТОКИНОВ В ФОРМИР...	http://elibrary.ru	20 Июн 2015	Коллекция eLIBRARY.RU	1	3
[86]	0,04%	0,13%	105027	http://biblioclub.ru	13 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	3	6
[87]	0,07%	0,12%	Ширяева, Елена Николаевна Диагност...	http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2007	Коллекция РГБ	2	3
[88]	0,07%	0,12%	Ермолаев	не указано	02 Ноя 2016	Кольцо вузов	1	2
[89]	0%	0,12%	Структурно-функциональная реорган...	http://emll.ru	21 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	3
[90]	0,07%	0,12%	Панкратов, Валерий Валентинович Вы...	http://dlib.rsl.ru	13 Сен 2013	Коллекция РГБ	2	3

[91]	0,06%	0,11%	Изучение антиоксидантной активност... не указано		05 Июн 2016	Кольцо вузов	1	2
[92]	0%	0,11%	Способ стимуляции заживления ран р... http://findpatent.ru		24 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	3
[93]	0%	0,11%	Неспецифическая профилактика забо... http://elibrary.ru		14 Ноя 2015	Коллекция eLIBRARY.RU	1	2
[94]	0%	0,11%	Арабиногалактан лиственницы - свойс... http://elibrary.ru		20 Июн 2019	Коллекция eLIBRARY.RU	0	3
[95]	0%	0,1%	Тюркина, Ольга Валентиновна диссерт... http://dlib.rsl.ru		раньше 2011	Коллекция РГБ	0	3
[96]	0%	0,09%	КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПР. http://elibrary.ru		раньше 2011	Коллекция eLIBRARY.RU	0	2
[97]	0%	0,09%	Земляной, Александр Борисович Гной... http://dlib.rsl.ru		01 Янв 2003	Коллекция РГБ	0	2
[98]	0%	0,09%	ПОКАЗАТЕЛИ СИНДРОМА ИНТОКСИКА. http://elibrary.ru		раньше 2011	Коллекция eLIBRARY.RU	0	3
[99]	0%	0,09%	238235 http://e.lanbook.com		раньше 2011	Сводная коллекция ЭБС	0	3
[100]	0%	0,09%	Диссертация терентьевой З.В..doc не указано		04 Дек 2015	Кольцо вузов	0	2
[101]	0%	0,08%	Вестник новых медицинских технолог... http://bibliorossica.com		26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	2
[102]	0%	0,08%	104225 http://biblioclub.ru		13 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	3
[103]	0%	0,08%	Спинул Анна Ивановна Диссертация С... не указано		13 Ноя 2017	Кольцо вузов	0	2
[104]	0%	0,07%	Иммунный гомеостаз слизистой обол... http://emll.ru		21 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	2
[105]	0,06%	0,06%	THE ROLE OF STEM CELLS IN REGENERA... http://elibrary.ru		02 Янв 2017	Модуль поиска переводных заимствований	1	1
[106]	0%	0,05%	Вестник новых медицинских технолог... http://bibliorossica.com		26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1
[107]	0%	0,05%	Влияние лазерной иридэктомии на ан... http://emll.ru		21 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	1
[108]	0%	0,05%	Диссертация Л.И. Константинова не указано		09 Ноя 2015	Кольцо вузов	0	1
[109]	0%	0,05%	КЛИ 5 не указано		23 Ноя 2015	Кольцо вузов	0	1
[110]	0%	0,05%	КЛИ-1 не указано		16 Ноя 2015	Кольцо вузов	0	1
[111]	0%	0,05%	104227 http://biblioclub.ru		13 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1
[112]	0%	0,05%	Морфофункциональное обоснование... http://emll.ru		21 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	1
[113]	0,04%	0,04%	Государственная фармакопея Российс... http://ivo.garant.ru		04 Мар 2019	Коллекция ГАРАНТ	1	1
[114]	0%	0,04%	Седативное средство и способ его пол... http://findpatent.ru		25 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	1
[115]	0%	0,04%	Жизнь без опасностей. Здоровье. Про... http://biblioclub.ru		раньше 2011	Сводная коллекция ЭБС	0	1
[116]	0%	0,04%	Заиченко Дарья Александровна Дипло. не указано		18 Июн 2018	Модуль поиска "АмГУ"	0	1
[117]	0%	0,04%	Чжан_науч_доклад_диссер не указано		05 Окт 2017	Модуль поиска "АмГУ"	0	2
[118]	0%	0,04%	Фурашова Е.В. Активность перекисног.. не указано		14 Июн 2018	Кольцо вузов	0	1
[119]	0%	0,04%	Разработка математического и прогр... не указано		20 Июн 2016	Модуль поиска "АмГУ"	0	1
[120]	0%	0,04%	Средство для лечения заболеваний пр... http://findpatent.ru		24 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	1
[121]	0%	0,04%	Твердая лекарственная форма, проявл... http://findpatent.ru		24 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	1
[122]	0%	0,04%	Способ детоксикации организма при о. http://findpatent.ru		24 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	1
[123]	0%	0,04%	Фармацевтическая композиция "мице... http://findpatent.ru		24 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	1
[124]	0%	0,04%	Способ детоксикации организма при о. http://findpatent.ru		25 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	1
[125]	0%	0,04%	Патоморфологическое исследование э... http://emll.ru		21 Дек 2016	Коллекция Медицина	0	1
[126]	0%	0,04%	Способ моделирования ренопаренхим. http://bankpatentov.ru		25 Июн 2015	Коллекция Патенты	0	1
[127]	0%	0,04%	Пищевая кальцийсодержащая добавк... http://findpatent.ru		раньше 2011	Коллекция Патенты	0	1
[128]	0%	0,04%	Заварзина_ВКР.docx не указано		21 Июн 2017	Модуль поиска "АмГУ"	0	1
[129]	0%	0,04%	Наумова Мария Александровна Наумо. не указано		20 Июн 2018	Модуль поиска "АмГУ"	0	1

[130]	0%	0,03%	Матушак Мария Ивановна Отчет по П...	не указано	22 Мая 2018	Модуль поиска "АмГУ"	0	1
[131]	0%	0,03%	МатушакМИ_2018_652ом	не указано	01 Июнь 2018	Модуль поиска "АмГУ"	0	1
[132]	0,03%	0,03%	Гистология, цитология и эмбриология	http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Коллекция Медицина	1	1
[133]	0%	0,03%	104240	http://biblioclub.ru	13 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1
[134]	0,17%	0%	не указано	не указано	раньше 2011	Модуль поиска общеупотребительных выражений	11	36
[135]	0,08%	0%	не указано	не указано	раньше 2011	Цитирование	1	1

Текст документа

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ

УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «АМУРСКАЯ

ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ» МИНИСТЕРСТВА

ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ **74**

На правах рукописи **57**

Намаконова Виктория Сергеевна

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ

РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭПИТЕЛИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ

ПУТЕЙ У ЖИВОТНЫХ РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ОБЩЕМ

ОХЛАЖДЕНИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПРИРОДНЫХ

АНТИОКСИДАНТОВ (экспериментальное исследование)

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель **88** :

доктор медицинских наук,

профессор **47** Красавина Н.П.

Благовещенск, 2019

2

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....4

ГЛАВА 1. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И

РЕГЕНЕРАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ

ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР.

ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА (ОБЗОР

ЛИТЕРАТУРЫ).....12

1.1. Влияние на организм низких температур и значение реакции перекисного

окисления липидов12

1.2. Морфологическая **20** характеристика слизистой оболочки органов дыхания.....17

1.3. Физиологическая и репаративная регенерация эпителия дыхательных путей и

роль стволовых клеток в этом процессе.....25

1.4. Возрастные особенности слизистой оболочки дыхательных путей.....29

1.5. Антиоксиданты природного происхождения и их применение в медицине и

биологии. Характеристика дигидрокверцетина и арабиногалактана.....31

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....34

2.1. Характеристика исследуемого материала.....34

2.2. Применяемые методы исследования.....36

2.3. Статистическая обработка результатов.....39

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....40

3.1. Морфологическая характеристика эпителия слизистой оболочки дыхательных

путей интактных животных разных возрастных

групп.....40

3.2. Морфофункциональные особенности эпителия слизистой оболочки

дыхательных путей животных разных возрастных групп при общем охлаждении

организма.....	56
3.3. Морфофункциональные особенности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей животных разных возрастных групп при применении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма.....	78
3.4. Морфофункциональные особенности эпителия слизистой оболочки	
3	
дыхательных путей животных разных возрастных групп при применении арабиногалактана и общем охлаждении организма.....	96
3.5. Регенерационная активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей интактных и экспериментальных крыс разных возрастных групп.....	113
3.6. Состояние основных показателей системы ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легкого у разновозрастных животных при введении природных антиоксидантов и общем охлаждении.....	120
3.7. Корреляционные связи показателей перекисного окисления липидов, клеточного состава эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при введении природных антиоксидантов и охлаждении организма животных разных возрастных	
групп.....	126

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ..... 138 **5**

ВЫВОДЫ..... 158

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... 160

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ..... 161

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 162 **61**

4

ВВЕДЕНИЕ **61**

В настоящее время вопросы патологии органов дыхания занимают одно из ведущих мест **134**, особенно в регионах, где на организм действуют негативные факторы внешней среды, такие как охлаждение. В процессе жизни организм периодически подвергается воздействию низких температур, которые могут привести к непосредственному влиянию холода на дыхательную систему, или активизировать реакции перекисного окисления липидов, что так или иначе может стать причиной развития патологии легких [45, 137, 144].

Адаптация организма определяется с одной стороны функционированием управляющих систем, а с другой морфологической перестройкой тканевых структур [84, 110, 114, 137]. Каждая ткань в организме имеет определенный запас стволовых клеток, которые обеспечивают пополнение популяционного состава, но при этом отмечена тенденция к уменьшению их количества в ходе жизнедеятельности организма, и особенно, при функциональных перегрузках и болезнях [133, 160, 174]. Если в молодом возрасте ткани имеют достаточно большой запас стволовых клеток, которые могут полностью обеспечивать естественное обновление путем физиологической регенерации, то при старении организма, регенерационный потенциал снижается. Что происходит в результате

уменьшения числа стволовых клеток **65**, или за счет накопления продуктов метаболизма, оказывающих повреждающее действие на клетки **65**, снижая, таким образом, способность их к пролиферации и частично извращая направленность дифференцировки [72, 90, 136, 189]. Современная свободнорадикальная теория старения предполагает, что с возрастом наступающая дизадаптация связана с повреждением биомолекул клеток и тканей продуктами ПОЛ [3, 73, 98, 137], что позволяет говорить о патофизиологической значимости применения природных антиоксидантов в области профилактики и лечения заболеваний органов дыхания. Поэтому, актуальным является исследование соединений природного происхождения, полученных из древесины лиственницы Гмелина (даурская), **9**

произрастающей в Дальневосточном регионе, которые обладают широким спектром антиоксидантной активности [9] и целым рядом других эффектов при воздействии на организм [37, 38, 73, 91]. В настоящее время фундаментальных исследований по изучению антиокислительных свойств дигидрокверцетина и арабиногалактана и их влияния на процессы регенерации слизистой оболочки органов дыхания разновозрастных животных при действии низких температур нет, что делает приоритетными работы в данной области.

Таким образом, все выше изложенное определяет актуальность экспериментального исследования патофизиологических закономерностей изменений морфофункционального состояния эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и его регенерационного потенциала при экстремальных воздействиях низких температур, а также коррекцию этих нарушений природными антиоксидантами.

Степень разработанности темы диссертации

Анализ данных литературы указывает, что наиболее важными в развитии патологических процессов в легких является интенсификация реакций ПОЛ и состояние АОЗ [93, 96, 140]. При отсутствии антиоксидантных веществ уровень

защитных систем прогрессивно снижается, содержание продуктов ПОЛ достигает максимума, причем [1] начинают преобладать трудно утилизируемые вторичные соединения [1] [7, 17, 74]. С возрастом происходит постепенное увеличение продуктов ПОЛ и уменьшение веществ антиоксидантной активности, что, по мнению многих авторов, играет ведущую роль [2] в старении [15, 36, 59]. При повышении уровня свободнорадикального окисления возникает быстрое разрушение клеточных структур в результате их повреждения. В информационных источниках недостаточно освещены вопросы об особенностях морфофункционального состояния эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и развитие адаптивных реакций на клеточном уровне в ответ на действие низких температур на фоне применения природных антиоксидантов [1]. Отсутствуют данные о корреляционных связях между биохимическими и морфометрическими показателями, позволяющими дать патофизиологическое обоснование

6 применения природных антиоксидантов, произрастающих в Дальневосточном регионе, как корректоров окислительного стресса в условиях общего охлаждения у животных разных возрастных групп [72, 101, 104, 220].

Повышение уровня антиоксидантной защиты путем дополнительного введения всегда дает рост устойчивости организма к различным воздействиям, действующим на процессы ПОЛ [14, 38, 65]. Биофлавоноид дигидрокверцетин и полисахарид арабиногалактан обладают антиоксидантными свойствами и положительно влияют на процессы регенерации [2] [26, 37, 65, 115]. По мнению ряда авторов, применение препаратов антиоксидантного действия вызывает снижение уровня ПОЛ, как в отдельных органах, так и в организме в целом, что [2] в итоге приводит к замедлению старения [141, 144, 146, 181].

Таким образом, в настоящий момент наиболее важным является выявление морфологических и биохимических маркеров оценки влияния природных антиоксидантов на организм в условиях общего охлаждения.

Цель исследования

Установить патофизиологические закономерности нарушений морфофункционального состояния и регенерационной активности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей у животных разных возрастных групп при общем охлаждении организма и коррекции нарушений перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) природными антиоксидантами.

Задачи исследования

1. Установить закономерности и особенности структурных изменений эпителия слизистой оболочки органов дыхания при общем охлаждении организма у животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев.

2. Оценить регенерационный потенциал клеток эпителия слизистой оболочки органов дыхания у животных разных возрастных групп при применении природных антиоксидантов (дигидрохверцетин и арабиногалактан) на фоне общего охлаждения.

3. Провести анализ состояния системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты периферической крови и ткани легкого у интактных

7

животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев и выявить изменения, развивающиеся при общем охлаждении организма.

4. Оценить эффективность применения природных антиоксидантов (дигидрохверцетин и арабиногалактан) при действии на организм низкой температуры у животных разных возрастных групп путем сопоставления биохимических показателей периферической крови и тканей легкого.

5. Установить корреляционные взаимосвязи показателей системы перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты, а также клеточного состава эпителия слизистой оболочки отделов трахеи и терминальных бронхиол при введении природных антиоксидантов на фоне общего охлаждения организма у животных разных возрастных групп.

Научная новизна.

Получены новые научные данные, расширяющие и углубляющие представления о влиянии низких температур на морфофункциональное состояние и регенерационную активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей, а также на систему ПОЛ-АОЗ у животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев.

Доказано, что общее охлаждение организма животных в зависимости от возраста вызывает разнонаправленную интенсификацию реакций свободнорадикального окисления в периферической крови и тканях легких, инициирующих морфологическую перестройку и функциональную активность эпителиоцитов слизистой оболочки дыхательных путей.

Описан и проиллюстрирован процесс экстрезии эпителиоцитов слизистой оболочки трахеи, проведена его оценка у интактных животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев, а также в условиях общего охлаждения организма и при применении природных антиоксидантов.

Впервые показана более значимая возрастзависимая коррекция системы ПОЛ-АОЗ при применении дигидрохверцетина на фоне общего охлаждения, по сравнению с арабиногалактаном, на активацию процесса регенерации, связанную с пролиферацией малодифференцированных клеток эпителия слизистой оболочки дыхательных путей.

8

На основе анализа корреляционных взаимосвязей системы ПОЛ-АОЗ и клеточного состава эпителия слизистой оболочки дыхательных путей получены данные о значимом влиянии дигидрохверцетина по сравнению с арабиногалактаном на антиокислительную активность периферической крови, тканей легкого и уровень регенерационного процесса эпителиоцитов у животных разных возрастных групп в условиях общего охлаждения.

На основании морфологических, морфометрических и биохимических данных обосновано применение дигидрохверцетина у лиц пожилого возраста с целью активации регенерационной активности эпителиоцитов слизистой оболочки органов дыхания в условиях общего охлаждения (Патент No 2679422).

Теоретическая и практическая значимость работы 134

На основании комплексного подхода по изучению развивающегося при действии низких температур окислительного стресса и изменений АОЗ, а также при применении на этом фоне антиоксидантных препаратов природного происхождения, получены новые научные данные о взаимосвязи между

показателями системы ПОЛ-АОЗ, морфофункциональным состоянием и регенерационной активностью эпителия слизистой оболочки трахеи и терминальных бронхиол у животных разных возрастных групп.

Разработан и внедрен в научные исследования способ активации регенерационного потенциала эпителия трахеи старых крыс при общем охлаждении организма (Патент РФ No2679422).

Основные положения работы внедрены в учебный процесс в отделе образования: в лекционный курс и практические занятия на кафедрах физиологии и патофизиологии, гистологии и биологии ФГБОУ ВО Амурской ГМА и ФГБОУ

ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»; научные исследования центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО

«Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России и ФГБНУ

«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания». 74

9 74

Методология и методы исследования.

Настоящее исследование проводилось в рамках Программы научно – исследовательских работ ФГБОУ ВО Амурской ГМА Минздрава России (No гос.регистрации 01201353927). Для анализа регенерационной активности эпителия дыхательных путей и системы ПОЛ-АОЗ у крыс (самцов) в возрасте 6 – 7 месяцев и 19 – 20 месяцев в условиях общего охлаждения организма, а также возможностей коррекции, применяли природные антиоксиданты, полученные из древесины лиственницы, произрастающей в Дальневосточном регионе (дигидрохверцетин и арабиногалактан). В проведенной работе применяли биохимические, общегистологические, гистохимические, электронно-микроскопические, электронно-гистохимический и морфометрические методы исследования. Полученные результаты регистрировались с помощью компьютерной морфометрии. Статистическая обработка полученных данных включала анализ значимости различий изучаемых показателей и их корреляций.

Положения, выносимые на защиту 55

1. Действие низких температур на организм животных характеризуется зависимым от возраста развитием дисбаланса в системе перекисное окисление липидов – антиоксидантной защиты в периферической крови и тканях легких, инициирующих нарушения в структуре эпителиального пласта слизистой оболочки дыхательных путей.

2. Морфофункциональная характеристика эпителия слизистой оболочки трахеи и терминальных бронхиол при введении дигидрохверцетина на фоне общего охлаждения организма 2 характеризуется более значимым по сравнению с арабиногалактаном возрастзависимым увеличением числа малодифференцированных клеток с высоким уровнем регенерационной активности, что обусловлено корректирующим влиянием препарата на процессы ПОЛ и АОЗ.

3. Установлены зависимые от возраста интегративные связи между параметрами системы ПОЛ-АОЗ и клеточным составом эпителия дыхательных путей у животных, свидетельствующие о более значимом антиокислительном и

10 адаптогенном эффекте дигидрохверцетина по сравнению с арабиногалактаном, усиливающим регенерационный потенциал эпителиоцитов при общем охлаждении организма.

Степень достоверности и апробация результатов

На достоверность результатов проведенных экспериментальных исследований указывает их воспроизводимость, достаточный объем наблюдений у животных разных возрастных групп 17. Научные положения и выводы обоснованы на основании результатов, полученных при использовании современных морфологических, гистологических, гистохимических и биохимических методов,

сертифицированного оборудования и реактивов, выполненных при личном участии автора. При оценке результатов исследования использована интегрированная система для комплексного статистического анализа Statistica 6.1 (Statsoft Inc., R США) с соблюдением общих рекомендаций для медицинских и биологических исследований. 22

Основные положения доложены и обсуждены на: XIV-й региональной научно-практической конференции с межрегиональным и международным участием (Благовещенск, 2013); X, XII, XIV Российско-Китайском фармацевтическом форуме (Благовещенск, 2013, 2015, 2017); XI и XIII Китайско-Российском форуме биомедицинских и фармацевтических наук (Харбин, 2014, 2016); XV, XVI, XVIII региональной научно-практической конференции «Молодежь XXI века: шаг в будущее» (Благовещенск, 2014, 2015, 2017); X международной научной конференции (Орел 8, 2017).

Личное участие автора

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в получении исходных данных, апробации результатов исследования, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по выполненной работе, оформлении текста 22 кандидатской 55 диссертации.

Публикации

По материалам выполненных исследований опубликовано 17 печатных работ, из них 4 – в журналах, включенных в перечень рецензируемых 22

11 научных журналов Министерства образования и науки России 22, получен 1 патент на изобретение No 2679422.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, глав собственных исследований и обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы включает 229 источников, из них 85 – зарубежных 8.

ГЛАВА 1. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И

12

РЕГЕНЕРАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ

ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР.

ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА

(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Влияние на организм низких температур и значение реакции перекисного окисления липидов

Приспособление к холоду у высших животных и человека представляет одну из сложных адаптивных реакций организма, связанную с увеличением теплообразования и является необходимой мерой защиты. При действии холода изменения направлены на увеличение производства тепла путем усиления окислительных процессов, а именно за счет обмена веществ (преимущественно катаболизм липидов), активации окислительно-восстановительных процессов в клетках. Адаптацию к холоду с точки зрения энергетического метаболизма, по-видимому, можно рассматривать как свойство организма работать на новом уровне энергетического баланса, когда увеличение затрат полностью компенсируются повышенным обменом веществ [22, 104, 107]. Данные процессы могут быть недостаточными и в этом случае биосистема способна изменить стратегию биохимической и морфологической адаптации ценой реализации программы минимум, теряя при этом те или иные структуры и важные функции [37, 42, 73, 91].

Структурные изменения слизистой оболочки воздухоносных путей при общем охлаждении характеризуется следующими этапами адаптогенеза. Для

первого периода – периода адаптационного напряжения (первые две-три недели), характерно повреждение реснитчатого аппарата эпителиальных клеток, вплоть до его частичной гибели, и увеличение числа секретирующих бокаловидных клеток. Второй период 1 носит название стабилизации (третья – четвертая неделя охлаждения), характеризуется частичным восстановлением реснитчатых клеток, снижением числа и уровня секреции бокаловидных клеток 1. Далее следует период

13

адаптации, в ходе которого происходит полное восстановление клеток эпителиального пласта и их структур [22, 110, 114].

Известно, что в ответ на холодовое воздействие и гипоксию усиливается секреторная активность бокаловидных клеток 1 при одновременном повреждении апикальной поверхности реснитчатых клеток. Эти изменения с одной стороны, обусловлены согреванием поступающего через дыхательные пути воздуха, а с другой – приводят к нарушению 1 мукоцилиарного клиренса, что может явиться причиной возникновения 1 патологии органов дыхания [63, 111, 134, 143]. В процессе адаптации к условиям Крайнего Севера организм человека подвергается воздействию ряда экологических стрессов, которые могут рассматриваться как субэкстремальные факторы, а в ряде случаев и как экстремальные.

Легкие – это один из органов, который в условиях длительной и суровой зимы наиболее подвержен воздействию низких температур. Этот орган обладает высокой степенью интенсивности метаболических реакций, необходимых для поддержания структурной и функциональной его целостности [54, 104, 107, 125]. Энергозатраты человека в условиях Севера значительно больше, по сравнению с затратами у жителей средних широт, поэтому воздействие холода приводит к изменению всего липидного спектра, резкому повышению реакций перекисного окисления как липидов, так и белков [22, 144]. Воздействие холодом вызывает у животных существенную адаптивную перестройку дыхательных путей, аналогичную той, которую наблюдают у людей, проживающих на Севере, что дает основание считать холод одним из ведущих экстремальных факторов [58, 91, 132, 135]. Известно, что при любом патологическом процессе ведущим симптомом которого служит гипоксия, наблюдаются общие закономерности.

В ходе жизнедеятельности, в нормальных условиях, в клетке постоянно происходит на определенном уровне процесс перекисного окисления липидов, что индуцирует образование активных форм кислорода. Это играет важную роль в регуляции проницаемости клеточных мембран, состоянии окислительного фосфорилирования клетки 4 [51, 57, 80, 119, 161].

При 4 ряде условий образование реактивных радикальных соединений 4

14

увеличивается, что и приводит к окислительному стрессу 4. Если кратковременное действие фактора умеренной интенсивности приводит к усилению функционирования органов и мобилизации организма, то при интенсивной или длительной стресс-реакции в клетках происходит активация процесса свободно-радикального окисления 90, угнетение энергопродукции, снижение синтеза белка и 90 денатурация белковых структур [18, 38, 50, 139, 180]. Первичными продуктами ПОЛ являются диеновые конъюгаты, которые оказывают повреждающее действие на липопротеиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты. Дальнейшие продукты ПОЛ – это альдегиды и кетоны, непрерывное накопление которых дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток [17, 19]. Активность реакции перекисного окисления липидов в тканях контролируется антиоксидантной системой, которая обеспечивает не только защиту от повреждающего действия свободных радикалов, но и влияет на адаптационные реакции 9. Функцию антиоксиданта в организме выполняет α -токоферол, он ингибирует перекисное окисление липидов и удаляет свободные радикалы, включая синглетный кислород, который является мощным окислителем 4. α -токоферол предупреждает образование конечных продуктов ПОЛ,

стабилизирует плазматические мембраны клеток и лизосом, способствуя тем самым сохранению их целостности и функциональной активности [91], является ловушкой свободных радикалов, обеспечивает разрушение их до 60% [14, 25, 56, 83, 116, 178]. Показатели α -токоферола могут повышаться при охлаждении, но его явно недостаточно для торможения реакций ПОЛ и защиты тканевых структур от продуктов метаболизма, обладающих цитотоксическими свойствами.

Церулоплазмин – антиоксидант внеклеточных жидкостей, это медь – содержащий белок, способный катализировать окисление ионов Fe^{2+} в Fe^{3+} без выделения в раствор свободных радикалов. Церулоплазмин блокирует образование OH – радикалов и H_2O_2 [25, 48, 83]. Активация гидроперекисных процессов происходит либо в результате чрезмерно усиленной генерации активных радикалов кислорода, или вследствие недостаточности антиоксидантных механизмов, либо при сочетании двух этих явлений. [9]

15 [9]

Интенсификация перекисного окисления липидов имеет особое значение для функционирования системы органов дыхания. Лёгкие представляют собой наиболее крупную биологическую мембрану организма, внешняя поверхность которой постоянно контактирует с кислородом, а также такими активными инициаторами перекисного окисления [4]. В органах дыхания при действии низких температур сосудистое русло представляет собой наиболее «благоприятное» место для индуцирования свободнорадикального окисления, что обусловлено высоким уровнем кислорода в крови, который, как известно, является необходимым субстратом для образования высокореактивных соединений [4], в частности приводящих к повреждению структур сосудистой стенки, десквамации эндотелия [138, 140, 158].

Ишемия и гипоксия тканей, наблюдаемая при действии холодового фона, являются дополнительными факторами, способствующими повышенному образованию реактивных оксидантов в различных органах тканей. Маловероятно, что гипоксия тканей ограничивает свободнорадикальные процессы, наоборот, есть много данных, свидетельствующих об усилении ПОЛ при ишемическом повреждении клеток [22, 58, 72, 143]. В динамике охлаждения установлен фазовый характер течения ПОЛ у экспериментальных животных. Воздействие низких температур приводит в эксперименте к достоверному росту в легком содержания начальных и конечных продуктов ПОЛ [9]. Повышение уровня антиоксидантов путем их дополнительного введения всегда дает [1] рост

устойчивости организма к различным воздействиям, стимулирующим процессы [1] ПОЛ в биомембранах. В отсутствие антиоксидантной коррекции уровень функционирования защитных систем прогрессивно снижается, содержание продуктов ПОЛ достигает максимума, причем в их структуре преобладают [1] трудноутилизуемые вторичные соединения. Уменьшение на этих этапах [1] первичных продуктов ПОЛ, таких как диеновые конъюгаты, гидроперекиси, вследствие [12] некомпенсированного «выгорания» субстратов для их образования может приводить к ошибочному заключению о благополучии в системе ПОЛ [1] -АОЗ [8, 38, 98, 137].

16

В экспериментальных работах обнаружены возрастные различия интенсивности свободнорадикальных процессов, которые заключаются в повышении уровня белковой пероксидации у старых крыс и разнонаправленных тканезависимых изменениях уровня перекисного окисления липидов [7, 9, 96, 165]. По мнению многих авторов, в митохондриях стареющей клетки интенсивность образования различных форм свободных радикалов повышается [83] [130, 177].

Реактивность легочной ткани в отношении свободнорадикального окисления имеет возрастную специфику. При повышении уровня

свободнорадикального окисления возможно быстрое разрушение клеточных структур в результате их повреждения. Анализ данных литературы позволяет предположить, что интенсивность ПОЛ и состояние АОЗ являются наиболее важными механизмами в формировании хронического воспалительного процесса в легких. Свободнорадикальное повреждение эпителия приводит к повышенной секреции биологически-активных веществ, что ведет к воспалительной клеточной инфильтрации, повышению сосудистой проницаемости [4] и местной гипоксии [58, 73, 106, 221]. Современная свободнорадикальная теория старения предполагает, что наступающая с возрастом дизадаптация связана с повреждениями важных биомолекул продуктами ПОЛ. В последнее время накопились данные, свидетельствующие о том, что старение организма связано с генетической нестабильностью [47], а долго живущие виды наделены более устойчивой системой защиты генетического аппарата от воздействия свободных радикалов [47]. Накопление повреждающих молекул, влияющих на ДНК ведет к нарушению окислительного фосфорилирования, снижению продукции АТФ, нарушению биогенеза мембранных структур и как следствие, процесс становится самоускоряющимся, возникают связанные с возрастом дегенеративные процессы, развитие которых усугубляется воздействием неблагоприятных факторов. Модификация структуры плазматической мембраны – один из наиболее вероятных механизмов нарушения регуляции тканевого метаболизма при старении [36, 80]. Развивающаяся при старении гипоксия приводит к изменению окислительного гомеостаза в организме [47]

17

и может служить одним из механизмов, вызывающих активацию [47] свободнорадикального окисления. Основываясь на имеющихся литературных данных [47] об антиоксидантном действии фитоадаптогенов можно предположить, что их использование могло [47] быть эффективным у пациентов старческого возраста [47], за счет снижения активности реакции ПОЛ и замедления темпа возрастной инволюции [13, 85, 144].

Из данных литературы известно, что при экстремальном воздействии происходит снижение активности антиоксидантных систем в крови экспериментальных животных и применение на этом фоне антиоксидантной терапии было наиболее выражено у животных старших возрастных групп (значительное уменьшение эндогенной интоксикации, снижение интенсивности [47] ПОЛ в крови и повышение антиоксидантной защиты) [8, 86, 144]. Этот факт свидетельствует о геропротективном действии антиоксидантных препаратов.

1.2. Морфологическая характеристика слизистой оболочки органов дыхания

Воздухопроводящий отдел дыхательной системы крыс представлен трахеей и системой бронхов, которые [24] в проксимально-дистальном направлении подразделяются на: главные, долевы, зональные, сегментарные, субсегментарные, внутридольковые бронхи и терминальные бронхиолы [34, 41, 44, 103].

Стенка трахеи состоит из: слизистой с подслизистой основой, фиброзно-хрящевой и адвентициальной оболочек. [37] Слизистая оболочка трахеи представлена однослойным многоядным мерцательным эпителием, расположенным на базальной мембране, которая имеет тесную связь, как с эпителием, так и с подлежащим собственным слоем [24] [55, 110]. Собственная пластинка слизистой представлена рыхлой волокнистой соединительной ткани, содержащей большое количество продольно расположенных эластических волокон, которые образуют пучки в субэпителиальной зоне [43], а также сплетениями аргирофильных (ретикулярных) волокон. В промежутках между волокнами часто встречаются

18

блуждающие клетки (лимфоциты, нейтрофилы, эозинофилы и тучные) при переходе их в эпителиальный слой. Клеточный состав слизистой оболочки в значительной степени зависит от [134] функциональной нагрузки воздухоносных путей

[41, 67, 89, 90, 103, 131].

Часто здесь формируются лимфоэпителиальные узелки,

инфильтрированные многочисленными лимфоцитами. Считают, что зона

лимфоидных образований обладает способностью к резорбции белковых веществ,

что позволяет рассматривать ее как структура, способную к захвату и транспорту

через базальную мембрану чужеродных веществ [106]. В собственной пластинке

находятся сосуды микроциркуляторного русла, причем капилляры не

контактируют с базальной мембраной, венозные сплетения в этой зоне

отсутствуют. Выявляются многочисленные нервные волокна, которые придают

слизистой чрезвычайную чувствительность.

В настоящее время в составе эпителия выделяют следующие типы клеток:

базальные, промежуточные, бокаловидные, реснитчатые, нейроэндокринные и

щеточные [20, 103, 113, 124, 131]. В эпителии бронхов мелкого калибра и

бронхиолах, кроме типичных элементов, имеются секреторные клетки (клетка

Клара), каемчатые и безреснитчатые клетки [131, 155, 168].

Все клетки располагаются на базальной мембране, которая почти полностью

покрыта клеточными элементами. Толщина базальной мембраны около 60-100

мкм и состоит из тонкой сети ретикулярных волокон, погруженных в аморфное

вещество. Базальная мембрана хорошо различима в электронном микроскопе, ее

поверхность, обращенная к эпителию, неровная, имеет нитевидные углубления, с

которыми в основном контактируют базальные клетки. Это обеспечивает более

прочную связь базальных клеток и мембраны по сравнению с остальными

клеточными элементами эпителия [19, 42, 156].

Стенка бронхиального дерева органов дыхания крыс в соответствии с их

строением и специфичностью участия в обеспечении акта дыхания по мере

разветвления бронхов и уменьшения калибра делается тоньше. Слизистая

оболочка приобретает складчатость за счет хорошо развитой мышечной

19

пластинки слизистой, что обусловлено сокращением гладкомышечных клеток.

Между складками в слизистой появляются крипты, уходящие в глубокие слои.

Вокруг крипт скапливаются лимфоциты, образуя нечто вроде бронхиальной

миндалины [27, 34, 90]. Уменьшение калибра бронхов приводит к появлению

бесхрящевых, мембранозных бронхов, расположенных глубоко в паренхиме

лёгкого. Высота эпителиального пласта и количество клеточных рядов в них

уменьшаются, и в бронхиолах покровный эпителий становится однорядным.

Терминальная бронхиола является конечным звеном бронхиального дерева, ее

слизистая оболочка выстлана однослойным кубическим, реснитчатым эпителием

с большим числом клеток Клара [188, 193, 219].

Базальные клетки – это малодифференцированные элементы, сохранившие

способность к митотическому делению. Они располагаются в базальном слое

эпителиального пласта и являются источником для процессов регенерации [44, 45,

103, 131, 151, 172, 184, 214]. Эти клетки никогда не достигают просвета трахеи,

имеют небольшие размеры, овальную или треугольную форму, их высота в

среднем составляет 12 – 15 мкм. Цитоплазма клеток имеет хорошо выраженную

гранулярную эндоплазматическую сеть, содержит много рибосом, некоторые из

них располагаются группами в виде полисом. Митохондрии разбросаны по всей

цитоплазме. На базальном полюсе клеток определяется множество

микрофибриллярных структур. Около 42% объема клетки занимает ядро овальной

формы, содержащее хроматин высокой плотности. Существует мнение, что одна

из функций этих клеток – фиксация эпителия к базальной мембране. Здесь

расположено множество кератиновых филаментов, связанных десмосомами с

соседними клетками, и с базальной мембраной [45, 184, 212]. Базальные клетки

составляют более 20% общей популяции клеток эпителия и являются

предшественниками вставочных (промежуточных) клеток, которые располагаются

в толще эпителиального пласта на базальной мембране. Их апикальный полюс не

доходит до поверхности эпителия и содержит микроворсинки высотой 0,5 – 1,5 мкм. Поверхностная мембрана микроворсинок покрыта гликокаликсом в виде тонких нитей. В цитоплазме этих клеток большое число рибосом, расположенных

20

как поодиночке, так и скоплениями, что придает электронную плотность.

Митохондрии чаще овальной или округлой формы с плотным матриксом.

Эндоплазматическая сеть равномерно распределена по всей цитоплазме. Ядро

промежуточной клетки богато ДНК, имеет овальную форму [44, 103, 108, 151].

Эти элементы могут дифференцироваться в реснитчатые и бокаловидные клетки.

Реснитчатые клетки имеют неправильно призматическую форму, причем две

трети их тела цилиндрической, а по направлению к базальной части клетка

сужается, образуя цитоплазматический вырост в виде корешка, который достигает

базальной мембраны. В апикальной части клетки расположен ряд базальных

телец, к которым прикрепляются реснички. Совокупность их образует

«реснитчатую» кайму. Каждая дифференцированная реснитчатая клетка имеет на

своей апикальной поверхности до 150 – 200 ресничек, у которых примерно

одинаковая длина (около 5 – 7 мкм [27]). Для ресничек характерны колебательные

движения, образующие на поверхности [48] клеток однонаправленные «бегущие

волны [48]». Электронно-оптическая плотность цитоплазмы реснитчатых клеток

невелика. Ядро овальное, пузырьковидное, в ряде случаев с неровными

контурами, обычно расположено в средней части клетки [20, 45, 103, 124, 167,

221].

На ультрамикроскопическом уровне реснитчатые клетки можно разделить

на два типа. Первый тип – «светлые» клетки – имеют электронно-прозрачную

цитоплазму, содержащую эндоплазматическую сеть и умеренное количество

свободных рибосом, разбросанных по всей цитоплазме. На апикальном полюсе

встречается большое количество округлых или слегка вытянутой формы

митохондрий [91, 106, 228]. Второй тип реснитчатых клеток представлен

«темными» эпителиоцитами, их цитоплазма обладает высокой электронной

плотностью, содержит многочисленные каналцы гранулярной

эндоплазматической сети, много свободных рибосом. Митохондрии таких клеток

имеют плотный матрикс, кристы хорошо выражены [106, 228]. Помимо ресничек,

на апикальной поверхности реснитчатых клеток [34] имеются микроворсинки –

выросты апикальной плазмолеммы. Высота микроворсинок и их число на клетку [27]

21

варьируют и в какой-то мере определяются фазой цилиогенеза. Микроворсинки

увеличивают площадь поверхности клеток и принимают участие в обмене

веществ между клеткой и внешней средой. Соотношение микроворсинок и

ресничек говорит о функциональной активности клеток. В «светлых»

мерцательных эпителиоцитах на фоне развитого реснитчатого аппарата

микроворсинки немногочисленны. В «темных» клетках – метаболически

активных, напротив, микроворсинки больше. Секреторная функция реснитчатых

эпителиоцитов выражается в отпочковывании от микроворсинок мелких везикул,

выходящих затем в просвет дыхательных путей и сохраняющих на своей

поверхности весь набор гидролитических ферментов [27] [41, 44, 92, 131]. Таким

образом, реснитчатые клетки могут служить источником ферментов и жидкого

компонента надклеточного слоя. Они выполняют функцию очищения

дыхательных путей, осуществляя продвижение секрета, увлажняющего

поверхность слизистой, и удаление различных пылевых частиц, свободных

клеточных элементов и микробов, попадающих в дыхательные пути [43]. Реснитчатые

клетки находятся в стадии конечной дифференцировки и не способны к делению

митозом [48].

Бокаловидные [67] клетки располагаются поодиночке, между реснитчатыми,

выделяют слизистый секрет, который идет увлажнение поверхности

эпителиального пласта. Они представляют собой одноклеточные железы,

функционирующие по мерокриновому типу [103, 106, 113, 189, 195]. Форма клетки и уровень расположения ядра зависят от фазы секреции и заполнения надъядерной части гранулами слизи, которые могут сливаться. Широкий конец клетки на свободной поверхности снабжен микроворсинками, узкий достигает базальной мембраны. Цитоплазма электронно-плотная, ядро неправильной формы. Клетки 43 содержат хорошо развитый комплекс Гольджи, который располагается, как правило, в надъядерной зоне или по всей ее апикальной части, гранулярную эндоплазматическую сеть с большим количеством свободных рибосом, которые образуют скопления в виде полисом. Многочисленные митохондрии чаще всего имеют округлую или овальную форму 11. Секрет

22

бокаловидных клеток богат гиалуроновой и сиаловой кислотами, что обеспечивает прилипание попадающих с воздухом пылевых частиц на поверхность слизистого покрытия [103, 106, 195]. В количественном отношении бокаловидные клетки занимают второе место после реснитчатых эпителиоцитов. Число их сокращается, по мере уменьшения диаметра бронхов 11 и полностью они исчезают в бронхиолах. По количеству содержащегося секрета можно выделить большие и малые бокаловидные клетки. В малых клетках содержится небольшое количество 11 секреторных гранул, сосредоточенных на апикальном полюсе. В больших клетках 11 гранулы секрета заполняют цитоплазму от поверхности апикального полюса до ядра. Такое строение отражает различные стадии секреторного цикла. В малых клетках преобладают процессы выведения секрета, а в больших – накопление его 11 [44, 113, 136, 189].

Щеточные клетки – гетерогенная популяция клеток, к которым можно отнести освободившиеся от секрета бокаловидные клетки, а также дифференцирующиеся реснитчатые клетки. Щеточные клетки имеют призматическую форму, их апикальная поверхность покрыта микроворсинками 37. В цитоплазме умеренное количество органоидов. На базальном полюсе 11 выявлены синапсы с чувствительными нервными волокнами, что указывает на возможность 37 рецепторной роли этих клеток 11. Полагают, что они реагируют на изменения химического состава воздуха, циркулирующего в воздухоносных путях, и являются хеморецепторами 53 [90, 106, 221, 228]. Есть мнение, что щеточные клетки – это видоизмененные реснитчатые клетки, приспособленные к выполнению резорбтивной функции. Нейроэндокринные клетки располагаются поодиночке, или группами, имеют пирамидальную форму и округлое ядро, в цитоплазме содержат мелкие электронно-плотные гранулы. Почти из-за прозрачной цитоплазмы они получили наименование «светлых» клеток. Их апикальный полюс иногда достигает общего уровня эпителиального слоя 11. В слизистой оболочке бронхов «светлые» клетки очень часто своим 11 базальным полюсом образуют контакты с тучными 11 клетками [67].

Нейроэндокринные клетки располагаются в трахеобронхиальной выстилке 27

23

вплоть до альвеолярных ходов, чаще в зонах бифуркации бронхов и могут контактировать в бронхиолах с секреторными клетками Клара 27. Они составляют до 8% общей популяции эпителия воздухоносных путей [103, 106, 167].

Нейроэндокринные клетки способны синтезировать кальцитонин, норадреналин, серотонин, бомбезин и другие вещества, принимающие участие в местных регуляторных реакциях 53 [20, 34, 90].

Клетки Клара встречаются на всех уровнях дыхательных путей, но наиболее типичны для мелких разветвлений, в которых отсутствуют бокаловидные клетки [21, 88, 176]. Эти клетки характеризуются куполообразной верхушкой, окружены короткими микроворсинками. Содержат округлое ядро 53 богатое хроматином, хорошо развитую эндоплазматическую сеть агранулярного типа 53, аппарат Гольджи, многочисленные митохондрии и небольшое число электронно-плотных

секреторных гранул. Популяция клеток Клара эпителиальной выстилки бронхиол

– одна из наиболее гетерогенных и полифункциональных клеточных типов [13].

Известно, что если количество бокаловидных клеток уменьшается, то число

клеток Клара растет [176, 201]. Клетки Клара в бронхиолах способны к

самообновлению собственной популяции и к порождению реснитчатых клеток. В

трахее [77] они могут только дифференцироваться в реснитчатые клетки и клетки без

ресничек. Именно клетки Клара в современной литературе рассматриваются

многими исследователями в качестве основного кандидата на роль резидентных

стволовых или прогениторных клеток [77]. Доказано, что клетки Клара играют роль

прогениторных клеток в эпителии бронхиол и трахеи мышей [77] [21, 169, 201, 210].

Клетки Клара могут выделять гликозаминогликаны, белки, такие как

лизосим и один из типов антител – иммуноглобулин А, чтобы защищать эпителий

бронхиол. Они также способствуют разрушению слизи из верхней части

воздухоносных путей, так как их гранулы содержат ферменты лизосом, играющие

роль в переваривании и защите [88, 106, 176].

На процесс пролиферации и дифференцировки клеток в эпителиальном

пласте существенную роль имеют процессы элиминации эпителиоцитов, что во

многом зависит от комплекса внутритканевых регуляторных механизмов. Убыль [46]

24

эпителиоцитов может осуществляться не только через механизмы апоптоза [46]

(запрограммированная гибель клеток), но и за счет экстрюзии морфологически

жизнеспособных элементов [100, 170]. О жизнеспособности элиминируемого

эпителиоцита свидетельствует морфологически неизменная структура ядра по

сравнению с оставшимися клетками в пласте.

Согласно данным прижизненных наблюдений и анализа микроскопических

срезов доля жизнеспособных клеток (сохраненная мерцательная активность,

морфологически неизменная структура ядра) не превышает 25% от общего

числа элиминируемых эпителиоцитов [5]. Этот механизм обычно запускается по

достижению определенного уровня плотности клеток в эпителиальном пласте.

Апоптозные клетки распознаются соседними неизмененными клетками и

элиминируются посредством выталкивания из пласта (экстрюзии) за счёт [5]

актомиозинового сокращения [100, 213]. В работах ряда авторов показана важная

роль как апоптоза, так и механизма элиминации в многорядном реснитчатом

эпителии дыхательных путей, что зависит от повреждения клеток, как в

нормальных условиях, так и при патологических процессах (воспаление,

гиперплазия) [43]. Перед экстрюзией эпителиальные клетки либо набухают, либо,

обезвоживаясь, уплотняются. Матрикс клеток просветляется, местами становится

бесструктурным. Органеллы резко уменьшаются в количестве,

эндоплазматическая сеть фрагментируется. В процессе возникновения этих

изменений, видимо, уменьшается вязкость базальной мембраны, ослабляется

плотность [11] межклеточных контактов. По мере экстрюзии клеток из эпителиального

пласта [11] находящиеся по обе ее стороны жизнеспособные [11] клетки, сближаясь,

образуя интердигитации, десмосомы, соединительные комплексы [170, 213].

Идентификация процесса экстрюзии клеток возможна после появления

апикальной части элиминируемой клетки над поверхностью эпителия, затем

следует выход ее ядродержащей части и в заключении, окончательное

выделение клетки из пласта [46]. Согласно представлениям ряда авторов, клеточная

элиминация помогает восстановить шестигранную организацию ткани с

удалением из пласта жизнеспособных клеток неправильной формы [5] [196, 221].

25

Достаточно часто в многорядном реснитчатом эпителии происходит экстрюзия

эпителиоцитов без ресничек, а учитывая особенности строения клетки можно

предположить, что в процесс вовлечены вставочные клетки [101, 171]. Таким

образом, экстрюзии могут подвергаться не только гибнущие эпителиоциты, но и

морфологически жизнеспособные, не прошедшие окончательную дифференцировку, элементы. В работах некоторых авторов показано, что на 1000 клеток экстрезии подвергаются 6 неапоптозных (жизнеспособных), 11 апоптозных и 2 клетки с заблокированным апоптозом [5] [100]. Частота выявления эпителиоцитов, находящихся в процессе элиминации, из функционально дифференцированного эпителия трахеи показала, что у старых животных такие клетки присутствуют чаще, чем у молодых [46] [43].

1.3. Физиологическая и репаративная регенерация эпителия дыхательных путей и роль стволовых клеток в этом процессе.

В организме взрослого человека существуют клетки, прошедшие все положенные этапы эмбрионального развития, но сохранившие способность при определенных условиях превращаться практически во все виды взрослых тканей.

Сейчас уже стало ясно и практически доказано, что такие клетки – это универсальные «запасные» части, которые используются организмом для восстановления и «починки» разных тканей [1, 14, 71, 79, 108, 192, 197]. Почти все дифференцированные клетки в организме млекопитающих имеют ограниченный срок жизни, поэтому гибель и замещение их происходит с различной скоростью. Эти процессы могут осуществляться как путем дубликации, когда при делении из дифференцированных клеток образуются потомки идентичного гено- и фенотипа, либо через замещение гибнущих дифференцированных клеток потомками недифференцированных ранних предшественников [14] [40, 102, 174, 194, 220].

Хотя наличие стволовых клеток, способных участвовать в формировании любой ткани организма, в настоящее время большинством исследователей не подвергается сомнению, тем не менее, многие аспекты цитофизиологии [30] [26]

стволовых клеток, а также их использования в целях регенерации тканевых и органических структур еще далеки от разрешения. Это касается, прежде всего, морфологической идентификации регуляторных факторов и механизмов, определяющих вступление стволовых клеток в пролиферативный цикл и регулирующих процессы их дифференцировки в том или ином направлении [30] [24,

162, 175]. Присутствие стволовых клеток в быстро обновляющихся клеточных популяциях обусловлено постоянной гибелью колоссального числа клеточных элементов, хотя основное пополнение численности клеточных популяций идет не на уровне стволовых или полустволовых клеток, а на уровне более дифференцированных клеточных элементов. Обнаружить стволовые клетки можно с помощью специальных методов, так как в «нативных» стволовых клетках и их производных синтезируются специфические белки. Стволовые клетки способны к длительному пребыванию в покое, а при стимуляции – к самовоспроизведению [14]. Необходимым условием нормального морфогенеза является формирование соответствующих рецепторов на этих клетках и продукция регуляторных веществ в организме, а также многие другие условия, возникающие в процессе соответствующих взаимодействий со всеми элементами микроокружения в процессе пролиферации и последующей дифференцировки потомков стволовых клеток [30]. Скорость обновления ткани является основной характеристикой ее регенеративного потенциала [117, 208].

Проблемами, стоящими в настоящий момент в области регенерации клеток органов дыхания являются [134, 182, 198, 217]:

1. Установление соответствия между популяциями стволовых и прогениторных клеток дыхательного эпителия [13].

2. Поиск предшественников клеточных популяций промежуточных клеток дыхательных путей.

3. Характеристика механизмов пролиферации и дифференцировки стволовых клеток эпителия органов дыхания.

Исследования последних лет продемонстрировали, что трахеобронхиальный эпителий населен двумя пулами клеток предшественников: базальной клеткой и [13]

специализированной секреторной клеткой **13** (клеткой Клара), которую рассматривают как прародителя реснитчатых элементов [137, 147, 203].

Пролиферативная активность нормального эпителия воздухоносных путей и вклад в пролиферативную активность нейроэндокринных, базальных и парабазальных клеток у человека определены, однако степень участия клеток Клара в обновлении клеток до конца неизвестна [132, 135, 193, 218, 224]. В легком дифференцированные клетки долговечны, и, следовательно, митотический индекс низок [148, 151, 152, 176, 194].

При определении интенсивности физиологической регенерации

используется, как правило, два критерия: уровень митотической активности и

интенсивность синтеза ДНК в популяции эпителиальных клеток. Оба этих

показателя указывают на число клеток, принимающих участие в пролиферации **1**

[40, 109, 182]. В обновлении эпителиальной выстилки слизистой оболочки

bronхов легких **1** млекопитающих одновременно участвуют несколько фракции

клеток **1**: базальные (малодифференцированные); переходные с более высокой

степенью дифференцировки; бокаловидные с высокой степенью

дифференцировки и функциональной специализации **1** [103, 203, 214].

Изучение процесса обновления эпителия показало, что при введении НЗ-

тимидина в организм крысы вставочные клетки трахеи включают изотоп через час

после его поступления, тогда как реснитчатые клетки, становятся мечеными

лишь через 5 суток. При этом трансформация транзитных форм в реснитчатые

клетки происходит очень быстро – за 1 сутки **5** [167]. В это время число базальных и

вставочных меченых клеток снижается **86** [160]. Есть мнение, что в **86** слизистых

оболочках трахеи и крупных бронхах есть популяции клеток со скоростью

обновления 2 дня **87** и 5 – 7 суток. Время, за которое происходит полное обновление

мерцательного эпителия **87** трахеи крысы **86**, составляет примерно 5 недель [137, 151,

155]. Физиологическая регенерация эпителия бронхов занимает от 47 до **11** 100

суток. Предполагают, что дистальные отделы бронхиальных путей обновляются в

течение **11** 52,2 суток [167, 184, 198].

Авторадиографические исследования с НЗ-тимидином показали, что **1**

28

митотически делятся только базальные клетки и из них вначале образуются

бокаловидные, а позднее появляются реснитчатые [103, 186]. В связи с этим

можно считать, что базальные клетки представляют собой фракцию активно

пролиферирующих стволовых клеток и являются основным источником

пополнения популяции бокаловидных и реснитчатых клеток многоклеточного

мерцательного эпителия воздухоносных путей **1**. В эпителии трахеи взрослых крыс

до 90 – 95% всех митозов приходится на долю базальных клеток, остальные 5 –

10% митозов **1** встречаются в переходных клетках [151, 160, 187]. Пролиферация

клеток эпителия воздухоносных путей подвержена суточным колебаниям [169,

186]. Максимальные показатели митотического деления эпителиальных клеток

трахеи крыс приходятся на утренние часы (от 4 до 8 ч), а минимальные – на

дневные и вечерние (от 14 до **1** 24 ч).

Для транзитных (или временных) дочерних клеток, которые являются

короткоживущими и стремятся к дифференцировке **5** многоклеточного эпителия,

характерно длительное существование дифференцированных клеток и

продолжительный митотический цикл базальных (камбиальных) клеток.

Значительная часть последних находится, по-видимому, в так называемой фазе

покоя, вне обычного митотического цикла. Благодаря этому рассматриваемая

тканевая система обладает мощными пролиферативными потенциями, которые

особенно отчетливо выявляются при репаративной регенерации **45** [192, 198, 205].

При изучении дифференцировки респираторного эпителия здоровых

половозрелых крыс было выявлено, что вначале базальные клетки превращаются

в переходные 5 формы, последние дифференцируются 5 в реснитчатые,

бокаловидные и «щеточные» эпителиоциты 5. Однако в ряде случаев отмечался прямой переход, либо в слизистые, либо 5 в реснитчатые клетки [109, 110].

Дифференцированные реснитчатые клетки не делятся. По 35 мере уменьшения калибра бронхов и относительного увеличения в эпителиальной выстилке клеток с высокой функциональной специализацией возрастает доля участия дифференцированных клеток в 15 обеспечении физиологической регенерации [155, 186]. 15

29

Степень повреждения эпителия бронхиол, а также масштабы ответной пролиферации клеток определяются главным образом дозой и длительностью действия патологического фактора. Из-за сравнительно низкого уровня пролиферативной активности и продолжительного времени обновления отдельных типов клеток эпителий воздухоносных путей относят к медленно обновляющимся тканевым системам. Известно о сравнительно низкой пролиферации клеток Клара, митотический цикл у взрослых мышей занимает около 30 ч. Однако при повреждении эпителиальной выстилки бронхиол, непораженные клетки начинают активно делиться, поэтому клетки Клара рассматриваются в качестве стволовых клеток выстилки бронхиол [205, 210, 221, 228]. Секреторные клетки имеют двойной потенциал, который заключается в том, что они могут претерпевать эпидермоидную дифференциацию и все же сохраняют способность вырабатывать мукоидные вещества. Эпидермоидная дифференциация является обычной реакцией трахеобронхиального эпителия на многие повреждения, включая термические и механические 15 [187, 203, 214].

1.4. Возрастные особенности слизистой оболочки дыхательных путей

После рождения развитие дыхательной системы у человека обусловлено увеличением количества и объема альвеол, удлинением воздухопроводящих путей 37. С 12 летнего возраста органы дыхания по внешнему и внутреннему строению близки к таковым у взрослых, но медленное развитие дыхательной системы продолжается до 20 – 24 летнего возраста 11 [44, 45, 53, 131]. После 70 лет в дыхательной системе отмечается инволюция: истончается эпителий и утолщается базальная мембрана в слизистой оболочке 37. Происходит атрофия желез 37, уменьшается количество гладкомышечных клеток в воздухоносных путях [106]. В

30

пожилом и старческом возрасте 134, в связи с изменением эпителио-соединительных взаимодействий в эпителиальной выстилке бронхов происходят инволютивные изменения [96]. Известно, что по мере уменьшения калибра бронхов и относительного увеличения в эпителиальной выстилке клеток с высокой 7 функциональной специализацией доля участия пролиферации 7 дифференцированных клеток в ее физиологической регенерации возрастает [42]. Эпителий 15 слизистой оболочки воздухоносных путей относят к медленно обновляющимся тканевым системам 31. О развитии инволютивных изменений в эпителии дыхательных путей пожилых людей свидетельствует накопление PAS-позитивных гранул в реснитчатых клетках, усиление десквамации эпителиоцитов, увеличение числа бокаловидных клеток, ослабление связи пласта с базальной мембраной 17.

У крыс реснитчатые клетки наиболее многочисленны, встречаются с распространённостью до 80 % в верхних дыхательных путях и до 33 50% - в нижних [164, 167]. К концу репродуктивного периода (18 мес.) и у старых (24 мес.) животных количественные параметры реснитчатых клеток превышают по сравнению с молодыми крысами, значительно возрастает содержание бокаловидных экзокриноцитов [43, 100]. Все это свидетельствует о сохранении при старении высокого уровня структурной и функциональной зрелости эпителиального пласта. У стареющих и старых животных эпителий в полной мере сохраняет дефинитивную структуру, однако в нем регулярно встречаются участки

гипертрофированных реснитчатых эпителиоцитов, а также гибнущие клетки со сморщенной оксифильной цитоплазмой и ядрами с краевой конденсацией хроматина.

Таким образом, есть основания говорить о снижении компенсаторных резервов эпителиальной выстилки в данный возрастной период: содержание базальных (камбиальных) элементов уменьшается до минимальных значений, возрастает количество гипертрофированных реснитчатых клеток с морфологическими признаками гибели [17] [190, 228].

1.5. Антиоксиданты природного происхождения и их применение в медицине и биологии. Характеристика дигидрокверцетина и арабиногалактана
Флавоноиды – это группа полифенольных соединений, которые широко

31

распространены в природе, многие из них имеют низкую токсичность и находят применение в медицине. Среди природных антиоксидантов растительного происхождения особый интерес представляют биофлавоноиды, которые не только улавливают свободные радикалы кислорода [4], так называемые активные формы, но и благоприятно влияют на сосудистую стенку и систему гемостаза [4] [65, 82, 122].

Дигидрокверцетин (таксифолин; 2-3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)4Н-1-бензопиран-4-ОН) впервые [64] был обнаружен в древесине дугласовой пихты в конце [64] 40-х годов [98]. Древесина лиственницы сибирской содержит до 2,5% флавоноидов, которые представлены в основном дигидрокверцетином, причем содержание его может достигать 90% от суммы флавоноидов [52]. Дигидрокверцетин по своим химическим свойствам является исключительно активным антиоксидантом [60], то есть веществом, обладающим способностью проникать внутрь липидной мембраны, связывая при этом свободные радикалы, лишая их вредоносной активности [26, 122, 222].

Антиоксидантная активность дигидрокверцетина сравнима с антиокислительной активностью α -токоферола. В результате многоплановых исследований установлено, что дигидрокверцетин ингибирует свободнорадикальное окисление как водорастворимых, так и жирорастворимых субстратов [13, 68]. В опытах на различных видах животных было установлено, что дигидрокверцетин является малотоксичным препаратом с низкой мутагенной активностью. Механизм действия дигидрокверцетина весьма разнообразен, в частности его антиоксидантное действие связано со способностью акцентировать свободные радикалы и/или хелатировать ионы металлов, катализирующих процессы окисления [4]. Экспериментальное доклиническое изучение [1] дигидрокверцетина показало, что препарат оказывает благоприятное воздействие на сосуды [1], снижает риск тромбообразования, улучшает микроциркуляцию за счет снижения сосудистой проницаемости, а также обладает антиоксидантными свойствами, капилляропротекторной и противоотечной активностью [56, 123, 185]. В опытах на лабораторных животных было установлено, что при гипоксии наблюдается резкое увеличение малонового диальдегида и снижение активности

32

антиоксидантных ферментов. Применение ДКВ, в этом случае, способствовало снижению уровня перекисного окисления липидов и повышения активности каталазы и пероксидазы во всех исследованных органах [13, 60, 65, 69]. При воспалительных заболеваниях бронхолегочной системы было выявлено усиление процессов ПОЛ за счет инициирования активных форм кислорода, что сопровождается ростом показателей малонового диальдегида и диеновых конъюгатов. Установлено, что у больных, получавших комплексную терапию в сочетании с ДКВ, быстрее исчезали признаки легочного воспаления, снижалось содержание продуктов ПОЛ в сыворотке крови [149, 183]. Имеются работы, свидетельствующие о том, что дигидрокверцетин обладает способностью

ускорять процессы образования фибрилл и способствовать стабилизации фибриллярной формы коллагена **1**, что может быть использовано в медицине [121]. В жизни растений и животных полисахариды играют важную многогранную роль. Они выполняют энергетическую и защитную функции, участвуют в обменных процессах клетки **24**. Арабиногалактан относится к классу полисахаридов, присутствует практически во всех хвойных видах древесины, но наибольшее его содержание отмечено в растениях рода лиственничных [14, 52]. Арабиногалактан представляет собой сухой порошок, белого, или бледно-серого, с легким хвойным запахом и сладковатым вкусом. Благодаря идеальной растворимости и мягкому вкусу, порошок легко растворяется в воде **1** [65, 91, 226].

Свойства арабиногалактана во многом определяются молекулярной массой его макромолекул **29**. Арабиногалактан лиственницы сибирской отличается от других **29** производных тем, что обладает невысокой молекулярной массой (среднемассовая м.м. 9000 – 13000) и небольшой степенью полидисперсности **29** (1,9 – 2,3). В нормальных тканях большинства пород растений, содержание арабиногалактана не велико и варьирует в пределах 0,5 – 3%. Исключением является древесина лиственницы сибирской, в которой он содержится в количестве 10 – 25% [78, 181, 204].

Природные антиоксиданты, входящие в состав растений, обладают способностью встраиваться в физиологическую антиоксидантную систему клетки, **63**

33 интегрируясь с ней, формируют новые соотношения **63** и взаимодействия между всеми компонентами системы **1**, и как результат, повышают эффективность адаптивных механизмов организма [81, 115]. Арабиногалактан оказывает антимикробное действие в отношении ряда бактерий, активирует метаболизм клеток, усиливает бактерицидный эффект в отношении поглощенных микроорганизмов **24**. Молекулы арабиногалактана оказывают антиаллергический эффект, стимулируют натуральные киллеры и эндотелиальные клетки.

В последние годы исследования биологической активности арабиногалактана резко активизировались, в связи с тем, что были экспериментально доказаны ряд его свойств, а именно: иммуномодулирующий эффект, связанный с активацией многих звеньев фагоцитарного процесса; проявление антиоксидантных свойств, обеспечивающих замедление процессов перекисного окисления липидов; мембранотропное свойство, активирующее уровень растворимости, активности и эффективности в высвобождении различных водорастворимых компонентов. Все это дает основание применять арабиногалактан как антиоксидантное средство [81, 126, 145, 216]. Достоинствами арабиногалактана являются: нетоксичность, хорошая растворимость в воде, способность быстро достигать отдельных органов, клеток, субклеточных структур.

Таким образом, природные **1** антиоксиданты, входящие в состав растений представляют собой многокомпонентные системы со сложным и разноплановым характером взаимодействия **1**, **93** которые встраиваются в физиологическую антиоксидантную систему клетки, интегрируясь с нею и формируя новые соотношения и взаимодействия между всеми компонентами системы, результатом чего является нормализация гомеостаза и повышение эффективности адаптивных механизмов в теплокровном организме **42**.

34

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились в рамках Программы научно – исследовательских работ ФГБОУ ВО « **79** Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации **74** No 01201353927: « Регенерация различных органов и систем с применением фармакологических препаратов для оптимизации клеточно – дифферонной

организации восстановительных процессов тканей организма» (135) руководитель программы д.м.н., профессор С.С. Целуйко).

2.1. Характеристика исследуемого материала

В эксперименте использовано (142) беспородных белых крыс-самцов (*Rattus norvegicus*) отряда Rodencia (57), из них в возрасте 6 – 7 месяцев «молодые» и массой тела 130 – 150 грамм (2) (70) и в возрасте 19 – 20 месяцев «старые» и массой тела 300 – 330 грамм (2) (72) (табл. 1). Использование крыс-самцов позволяет исключить влияние половых циклов на результаты исследований, в том числе действия эстрогенов на показатели системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты.

Перед началом эксперимента животные отобранными группами были переведены на содержание в одинаковые условия с полноценным пищевым и питьевым режимами в соответствии с существующими нормами содержания («Правила (4) проведения работ с использованием экспериментальных животных (134)», 1977). (7) Все животные содержались в виварии (1) согласно « (80) Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических (113) 35 клиник» ((113) от 6.04.1993г.), получали питание в соответствии с нормами, утвержденными приказом (1) No 163 МЗ СССР от 10.03.1986. Все эксперименты выполнялись согласно правилам бережного обращения с лабораторными животными (Приложение 4 к приказу (1) No 755 МЗ СССР).

Содержание животных и их питьевой режим были одинаковы. Убой животных производили в утренние часы (1) (9.00 – 9.30), натошак, введением внутримышечно 1% раствор калипсола в соответствии с (1) требованиями приказа МЗ СССР No 755 от 12.08.77г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Интактные животные (7) в возрасте 6 – 7 и 19 – 20 месяцев групп (30) содержались в условиях вивария в течение всего эксперимента, при температуре (84) 22 оС (табл. 1).

Моделирование влияния низких температур на регенерационную активность слизистой оболочки дыхательных путей проводилось путем помещения 38 экспериментальных животных (экспериментальный контроль) в возрасте 6 – 7 и 19 – 20 месяцев в климатокамеру «ILKA» (Feutron), в которой соблюдались адекватные условия влажности и вентиляции с температурой -15оС, по 3 часа ежедневно, в течение 14 дней. В работе камеры предусматривался световой режим и циркуляция воздуха для предупреждения гипоксии (табл. 1). Оценка действия природных антиоксидантов на систему ПОЛ и регенерационную активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей проводилась у 73 экспериментальных животных в возрасте 6 – 7 и 19 – 20 месяцев путем перорального введения дигидрохверцетина («Аметис», ТУ 2455-003-4875962-04, г. Благовещенск) или арабиногалактана («Аметис», ТУ 9325-018-70692152-2012, г. Благовещенск) из расчета 5мг/100г в течение 14 дней, предшествующих охлаждению. Затем крыс подвергали общему холодовому воздействию в течение 14 дней по 3 часа ежедневно при Т -15оС, продолжая введение препарата во время холодового эксперимента (табл. 1 (3)).

Забой животных осуществлялся путем дислокации шейных позвонков под действием наркоза с последующим забором крови для исследования. В

36 дальнейшем у животного вскрывали грудную клетку, выделяли дыхательный комплекс, для морфологического исследования брали материал трахеи и часть легкого. Объектом морфологического и гистохимического исследования были слизистая оболочка воздухоносного отдела легкого: краниальный (участок 2 – 7 полуколец, расположенный ниже гортани) и каудальный (область выше бифуркации) отделы трахеи, а также внутридолевые, мембранозные бронхи и

терминальные бронхиолы (290 образцов). Биохимическому исследованию подвергалась кровь (160 образцов) и ткани легкого (140 образцов) животного.

Таблица 1 – Экспериментальные группы животных

No

группы Краткая характеристика групп Количество

Молодые Старые

1 Интактные. Животные содержались в условиях вивария

в течение всего эксперимента, температура 22 оС

15 15

2 Экспериментальный контроль. Животные подвергались

общему холодовому воздействию в течение 14 дней по 3

часа ежедневно при T -15оС

18 20

3 Экспериментальные животные. В течение 14 дней,

предшествующих охлаждению, животным перорально

вводили дигидрохлорид из расчета 5мг/100г. Затем

крыс подвергали общему холодовому воздействию в

течение 14 дней по 3 часа ежедневно при T -15оС,

продолжая введение препарата во время холодового

эксперимента.

18 18

4 Экспериментальные животные. В течение 14 дней,

предшествующих охлаждению, животным перорально

вводили арабиногалактан из расчета 5мг/100г. Затем

крыс подвергали общему холодовому воздействию в

течение 14 дней по 3 часа ежедневно при T -15оС,

продолжая введение препарата во время холодового

эксперимента.

19 19 3

2.2. Применяемые методы исследования

Для морфологических исследований образцы тканей трахеи и бронхов

фиксируют в 10% растворе нейтрального формалина. Окраску парафиновых

срезов толщиной 5-10 мкм для изучения плана строения тканей трахеи и бронхов

проводили гематоксилином и эозином. Нейтральные полисахариды выявляли 20

37

ШИК – реакцией по Мак – Манусу с контрольной обработкой срезов альфа-

амилазой [75], гликозаминогликаны – ализариновым синим 8 GX по Сидмэну с

контрольной обработкой срезов в растворе тестикулярной гиалуронидазы 20 [75].

Материал боковых поверхностей трахеи (краниального и каудального

отделов), внутридолевых и мембранозных бронхов, а также терминальных

бронхиол подвергали морфологическому исследованию на полутонких срезах, а

также ультратонких срезах методом трансмиссионной микроскопии. Для этого

вырезали кусочки ткани размером 11мм, материал фиксировался в течение 1 часа

в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,1 М какодильном буфере (рН 7,4), затем

образцы ткани помещали в 1 раствор осмиевой кислоты на 0,1 М какодильном

буфере (рН 7,4) на 1,5 часа. Обезвоживание материала осуществляли в спиртах

восходящей концентрации: 50, 60, 70, 80, 96 по 10 минут и в двух сменах

абсолютного спирта по 10 минут. После чего образцы ткани заливали в смесь

эпон-аралдита. Полимеризацию проводили при температуре +60°С в течение 72

часов. Полутонкие и ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме «LKB-

NOVA 8800» (Швеция). С каждого блока сначала готовили полутонкие срезы,

которые окрашивали метиленовым синим 7 по методу Sato [30]. На полутонких

срезах выбирался участок для 1 получения ультратонких срезов, которые

контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитрата

свинца. ¹³ Исследование и фотографирование ультратонких срезов проводили на электронном микроскопе просвечивающего типа «Technai G2 Spirit Twin» (Голландия). Фотосъемка парафиновых и полутонких срезов ³ проводилась на микроскопе ¹ «Primo star» (Zeiss, Германия).

С целью изучения регенерационной активности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей оценивали локализацию и активность щелочной фосфомоноэстеразы методом электронной гистохимии по Mayahara с соавт. [30]. Кусочки ткани фиксировали при температуре от 0°C до -4°C в течение 1 часа в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,1 М какодилатном буфере (pH 7,4 ⁷). Инкубация срезов проводилась в среде при температуре 20°C в течение 20 минут ¹³⁴. Морфометрический анализ проводили путем изучения эпителия

38

дыхательных путей различных отделов. Измерения осуществлялись на полутонких срезах, окрашенных метиленовым синим. В трахее определяли высоту эпителия и ресничек. Процентное соотношение различных элементов эпителия определяли при подсчете на 100 мкм длины эпителиального пласта. Дифференцировали клеточные элементы (реснитчатые, бокаловидные, промежуточные, базальные) на основании структуры ядра и его места расположения. Уровень экстрезии эпителиальных клеток оценивали на 1000 ядер эпителиального пласта с обязательным подсчетом числа элементов с неизменными ядрами. В терминальных бронхиолах проводился подсчет числа реснитчатых клеток и клеток Клара. Оценивали миграцию тучных клеток через эпителий ¹, путем подсчета этих элементов на 100 мкм длины эпителиального пласта ¹. На электронограммах проводили измерение площади и ядра: базальных клеток в краниальном и каудальном отделах трахеи, а также клеток Клара в терминальных бронхиолах.

Для стандартизации процедуры измерения проводили на продольных срезах, используя световой микроскоп «Primo star» (Zeiss, Германия) и цифровую камеру окуляр модель ¹ AxioCam ERc 5s (5 МПикс., USB2.0) при помощи которого в поле зрения одновременно виден микроскопируемый объект. Контуры измеряемых объектов очерчивались изображением светящегося маркера манипулятора «мышь», вводящего метки изображения в компьютер. При помощи специальной программы количественного анализа ¹ «ZEN lite 2012 Manual»,

результаты сохранялись в базе данных компьютера для последующей работы с ними. Морфометрическая программа «Image Scope Color» придерживается компьютерного стандарта кодировки размерности, который соотносит между собой пиксели минимальные элементы изображения на экране компьютерного дисплея и единицы длины ¹.

Кровь животного и ткань легкого для биохимического анализа забирали для получения липидного экстракта по методу Блайя – Дайера (1975). В основу этого метода положено разрушение липидно – белковых связей полярным растворителем (метанолом) с последующим экстрагированием липидов

39

хлороформом. Для оценки процессов перекисного окисления липидов в ходе эксперимента определяли содержание диеновых ¹ конъюгатов, гидроперекисей липидов, малонового диальдегида. Состояние антиоксидантной системы оценивали по содержанию ¹ α-токоферола и церулоплазмина. Диеновые конъюгаты измеряли при длине волны 233 нм с ходом луча 10 мм в результате появления нового максимума в спектре поглощения при образовании свободных радикалов (Стальная И. Д., 1972) [107]. Содержание малонового диальдегида определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (Бородин Е. А., Арчаков А. И., 1987) [17]. Гидроперекиси липидов определяли по их способности окислять ионы Fe³⁺ с тиоцианатом аммония (Романова Л. А., Стальная И. Д., 1977 в модификации Бородин Е. А. с соавт., 1992) [99]. Определение церулоплазмина основано на

окислении р-фенилендиамина при его участии (Колб В.Г., Камышников В.С., 1976) [56]. Содержание α-токоферола определяли в липидных экстрактах ткани по цветной реакции с дипиридилом и FeCl₃ (Киселевич Р. Ж., Скварко С. И., 1972, 20) [52].

2.3. Статистическая обработка результатов

При статистическом анализе данных применяли программы Statistica 6.1 (Statsoft Inc., R США). Величина уровня статистической значимости (p) принята равной 0,05. При точечной оценке непрерывные величины были представлены как средние и стандартные отклонения в формате $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение 82, при соответствии нормальному закону распределения 22. Принимались во внимание уровни значимости (p) – 0,05; 0,01; 0,001. 85 Исследование связи между количественными признаками осуществляли при помощи парного коэффициента линейной корреляции Пирсона (r), где $r = 0,7 - 1,0$ – сильная зависимость; $r = 0,69 - 0,3$ – умеренная зависимость 2; $r > 0,29$ – слабая зависимость 22.

40

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Морфологическая характеристика эпителия слизистой оболочки

дыхательных путей интактных животных разных возрастных групп

Морфологический план строения слизистой оболочки воздухоносных путей

крыс практически не отличался от плана строения у человека и большинства

млекопитающих. Слизистая оболочка на большем протяжении была представлена

однослойным многоядным реснитчатым эпителием, расположенным на

базальной мембране 7. Собственная пластинка слизистой, состояла из рыхлой

волокнистой соединительной ткани, в которой располагались 132 сосуда

микроциркуляторного русла, а также клетки соединительной ткани и различные

лейкоциты, мигрирующие из кровеносного капиллярного русла.

Результаты морфологического исследования в группе «молодых» интактных

животных в возрасте 6 – 7 месяцев показали, что многоядный реснитчатый

эпителий в обоих отделах трахеи имел типичный план строения, располагался на

базальной мембране, реснитчатый слой был без особенностей (рис. 1, 2). Число

рядов в эпителии по протяженности варьировало. В составе эпителия

присутствовали единичные тучные клетки. Выявлялись признаки экстрюзии

эпителиоцитов, число которых в краниальном отделе составило $0,74 \pm 0,11$ %, в

каудальном – $0,92 \pm 0,17$ %, причем в большинстве случаев эпителиальные клетки

в ходе экстрюзии сохраняли неизменные по структуре ядра (табл. 2). Базальные

клетки имели многоугольную форму и располагались широким основанием на

базальной мембране (рис. 3). Число базальных клеток в обоих отделах примерно

одинаково – $15,1 \pm 0,5$ %; $14,0 \pm 0,4$ %, они имели типичный план строения и

размер. Ядро базальной клетки округлое, занимало большую часть цитоплазмы,

41

интенсивно окрашивалось на ДНК. Площадь ядра базальной клетки в каудальном

отделе составила $24,2 \pm 0,12$ мкм², в краниальном отделе – $21,9 \pm 0,15$ мкм²

(табл. 2). Большинство промежуточных клеток имели коническую форму,

основанием тесно прилежат к базальной мембране, их верхушка никогда не

доходила до просвета трахеи.

Таблица 2 – Морфометрические показатели эпителиального пласта и клеток

слизистой трахеи и терминальной бронхиолы в интактной группе животных в

возрасте 6 – 7 месяцев, $M \pm SD$

Показатели Отдел трахеи

Краниальный Каудальный

Высота эпителия, мкм $28,7 \pm 0,37$ $26,4 \pm 0,16$

Высота ресничек, мкм $4,1 \pm 0,05$ $3,9 \pm 0,06$

БК, % $15,1 \pm 0,5$ $14,0 \pm 0,4$

Площадь БК, мкм² 32,3±0,27 31,9±0,32

Площадь ядра БК, мкм² 21,9±0,15 24,2±0,12

ЭЭК, ‰ 0,74±0,11 0,92±0,17

ЭЭК с неизменными ядрами, ‰ 0,52±0,13 0,58±0,12

ПК, ‰ 18,5±0,4 21,2±0,5

БоК, ‰ 19,4±0,4 16,7±0,51

РК, ‰ 49,4±0,9 44,9±0,6

ТК на 100 мкм длины эпителия 1,3±0,09 1,35±0,11

Показатели: Терминальная бронхиола

Число РК на 100 мкм пласта эпителия 15,4±1,2

Число КК на 100 мкм пласта эпителия 8,7±0,9

Площадь КК, мкм² 68,3±2,16

Площадь ядра КК, мкм² 22,4±0,64

Число промежуточных клеток преобладало в каудальном отделе трахеи и составило 21,2 ± 0,5 %. Часть этих клеток находилось в состоянии экстрюзии, в связи, с чем некоторые из них имели измененные ядра и были смещены ближе к апикальному полюсу эпителия. Высота эпителия, как в краниальном, так и каудальном отделе трахеи составила 28,7 ± 0,37 мкм и 26,4 ± 0,16 мкм, соответственно. В составе эпителия преобладали реснитчатые клетки, число которых в краниальном отделе составило 49,4 ± 0,9 %. Верхушка реснитчатой клетки была обращена к просвету и значительно шире, чем основание, контактирующее с базальной мембраной. Ядра клеток имели четко очерченные

42
контуры с хорошо выраженными мелкими глыбками хроматина, многочисленные митохондрии располагались в надъядерной зоне.

Рисунок 1. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев.

Краниальный отдел. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро

базальной клетки. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1
1000.

Рисунок 2. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев.

Каудальный отдел. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро

43
базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – экстрюзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 3. Электронограмма базальной клетки интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – митохондрии; 2 – эндоплазматический ретикулум; 3 – ядро базальной клетки; 4 – базальная мембрана; 5 – десмосомы. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 23000.

Рисунок 4. Электронограмма апикального отдела эпителия трахеи интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – реснички; 2 – гранулы секрета в реснитчатом слое; 3 – митохондрии; 4 – ядро реснитчатой клетки. Реакция по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение

44
20000.
На апикальной поверхности выявлялись реснички и микроворсинки (рис. 4). Высота ресничек в краниальном и каудальном отделе составила 4,1 ± 0,05 мкм и 3,9 ± 0,06 мкм, соответственно. Значительное место в структуре эпителия трахеи занимали бокаловидные клетки. Подсчет числа этих элементов позволил выявить, что секреторная активность в краниальном отделе была выше, чем в каудальном и составила 19,4 ± 0,4 % и 16,7 ± 0,51 %, соответственно. Структура бокаловидных клеток зависела от степени функционального напряжения. Апикальная часть цитоплазмы бокаловидной клетки была расширена и содержала секреторные

гранулы различного размера, разделенные тонкими прослойками цитоплазмы (рис. 5). В краниальном отделе преобладали бокаловидные клетки, содержащие ШИК – позитивные гранулы (рис. 6). Количество продуктов реакции на гликозаминогликаны в бокаловидных клетках было незначительным. Внутридолевой бронх имел выраженную складчатость слизистой оболочки за счет хорошо развитой мышечной пластинки. Встречались скопления лимфоидной ткани. Эпителий на большем протяжении сохранял многорядность. Бокаловидные клетки в основном содержали умеренное количество секрета. Базальные клетки немногочисленны. Стенка мембранозного бронха сохраняла складчатость слизистой, ее эпителий – двурядный (рис. 7). Применение ШИК-реакции позволило выявить четко контурируемую базальную мембрану эпителиального пласта и умеренное количество секрета на поверхности эпителия (рис. 8). В стенке терминальной бронхиолы реснитчатые клетки выявлялись в виде одного ряда, расположенные в непосредственном контакте с базальной мембраной. Второй ряд был представлен клетками Клара, часть из которых утрачивала контакт с эпителиальным пластом (рис. 9). Эти клетки

характеризовались куполообразной верхушкой, окруженной короткими микроворсинками, содержали округлое ядро **53** богатое хроматином. В цитоплазме небольшое количество электронно-плотных секреторных гранул. Число реснитчатых клеток на 100 мкм эпителия в терминальной бронхиоле составило –

45

$15,4 \pm 1,2$; клеток Клара – $8,7 \pm 0,9$ с площадью $68,3 \pm 2,16$ мкм² и площадью ядра – $22,4 \pm 0,64$ мкм².

Рисунок 5. Электронограмма апикальной части бокаловидной клетки интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – гранулы средней электронной плотности; 2 – комплекс Гольджи; 3 – микроворсинки. Заливка в аралдит, эпон. Окраска **1** уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 12000.

Рисунок 6. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидная клетка; (⊥) – реснитчатый слой. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

46

Рисунок 7. Стенка внутридолевого бронха интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – реснитчатая клетка; (⊥) – реснитчатый слой; 4 – базальная клетка; 5 – складка эпителиального пласта. Полутокий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 8. Мембранозный бронх интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий; 2 – мышечная пластинка; 3 – стенка альвеолы; (⊥) – собственная пластинка. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу с докраской гематоксилином.

Увеличение **4** 400.

47

Рисунок 9. Терминальная бронхиола интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – клетки в просвете бронха. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

При исследовании морфоструктуры реснитчатого эпителия краниального отдела трахеи у «старых» интактных животных в возрасте 19–20 месяцев установлено, что в многорядном эпителии клетки располагались в 3–4 ряда. Высота эпителия составила $29,6 \pm 0,51$ мкм (табл. 3).

Реснитчатый слой располагался довольно равномерно, хотя выявлялись участки, где реснички практически отсутствовали. Наиболее многочисленны в эпителии реснитчатые клетки – $44,7 \pm 0,7$ %, их ядра имели различный размер, были несколько смещены к апикальному полюсу (рис. 10). В ряде реснитчатых клеток цитоплазма выглядела более светлой, на этом фоне были хорошо заметны

ШИК–положительные гранулы.

При электронной микроскопии на апикальной поверхности некоторых реснитчатых клеток реснички и микроворсинки имели очаговую локализацию, в этой зоне располагалось умеренное количество небольших митохондрий. Ядра в основном имели многочисленные инвагинации и мелкий хроматин, который был сосредоточен около ядерной оболочки (рис. 11). В эпителии выявлялась экструзия преимущественно промежуточных клеток, число которых равно $1,24 \pm 0,2 \%$ (табл. 3). Количество базальных клеток составляет $12,7 \pm 0,4 \%$, их площадь равна

48

$30,8 \pm 0,32 \text{ мкм}^2$, ядра крупные, имели хорошо заметное ядрышко, немногочисленные мелкие митохондрии (рис. 12). Гистохимический анализ бокаловидных клеток показал, что они располагались очагами, содержали умеренное количество секреторных гранул, причем часть секрета в виде нейтральных полисахаридов или гликозаминогликанов выявлялась в составе слизистого покрытия (рис. 13, 14).

Тучные клетки в составе эпителиального пласта присутствовали в незначительном количестве, чаще располагались поодиночке. В собственной пластинке слизистой отмечалось наличие очаговых скоплений коллагеновых волокон. В каудальном отделе трахеи процентное соотношение клеточных элементов значимо не отличалось от краниального отдела (табл. 3).

Таблица 3 – Морфометрические показатели эпителиального пласта и клеток слизистой трахеи и терминальной бронхиолы в интактной группе животных в возрасте 19–20 месяцев, $M \pm SD$

Показатели Отдел трахеи

Краниальный Каудальный

Высота эпителия, мкм $29,6 \pm 0,32$ $28,4 \pm 0,21$

Высота ресничек, мкм $4,25 \pm 0,08$ $4,38 \pm 0,12$

БК, % $12,7 \pm 0,4$ $12,1 \pm 0,3$

Площадь БК, мкм^2 $30,8 \pm 0,32$ $28,7 \pm 0,35$

Площадь ядра БК, мкм^2 $20,0 \pm 0,18$ $20,8 \pm 0,24$

ЭК, % $1,24 \pm 0,2$ $1,36 \pm 0,17$

ЭК с неизменными ядрами, % $0,68 \pm 0,17$ $0,65 \pm 0,2$

ПК, % $13,7 \pm 0,6$ $14,8 \pm 0,7$

Бок, % $21,6 \pm 0,5$ $22,1 \pm 0,3$

РК, % $44,7 \pm 0,7$ $43,1 \pm 0,5$

ТК на 100 мкм длины эпителия $0,89 \pm 0,08$ $0,77 \pm 0,05$

Показатели: Терминальная бронхиола

Число РК на 100 мкм пласта эпителия $13,9 \pm 0,95$

Число КК на 100 мкм пласта эпителия $8,2 \pm 0,4$

Площадь КК, мкм^2 $75,1 \pm 1,92$

Площадь ядра КК, мкм^2 $23,5 \pm 0,58$

49

Рисунок 10. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев.

Краниальный отдел. 1 – эпителий многоядерный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – светлая реснитчатая клетка; 6 – экструзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 11. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – ядро реснитчатой клетки; 3 – реснички; 4 – митохондрии. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 10000.

50

Рисунок 12. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – ядро реснитчатой

клетки; 3 – митохондрии; 4 – каналцы эндоплазматической сети. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 25000.

Рисунок 13. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев.

Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – базальная мембрана; (1) – бокаловидные клетки. Окраска ШИК – реакция по Манусу. Увеличение 400.

51

Рисунок 14. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев.

Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидные клетки; (1) – реснитчатый слой. Окраска альциановым синим 8 GX по Стивдману с докраской ядер кармином. Увеличение 400.

На дорзальной поверхности высота эпителиального пласта варьировала, здесь появлялись многочисленные сосочковые выросты эпителия (рис. 15).

Вставочные клетки в состоянии экстрюзии располагались в основном группами, часть из них сохраняла типичную структуру ядра. Реснитчатые клетки имели ядра различного размера, которые располагались на разных уровнях. Более часто выявлялись клетки с электронно-светлой цитоплазмой. Тучные клетки содержали многочисленные базофильно окрашенные гранулы. В соединительной ткани собственной пластинки выявлялось умеренное количество пучков коллагеновых волокон, а также лимфоидные инфильтраты, из которых часть лимфоцитов мигрировала через эпителий в просвет (рис. 16).

В составе эпителия внутридолевого бронха присутствовали многочисленные реснитчатые клетки. Их ядра крупные, округлой формы, располагались на различных уровнях (рис. 17). Между ними наблюдались единичные вставочные клетки в состоянии экстрюзии. Базальные клетки были расположены неравномерно, имели небольшой размер и довольно крупное ядро.

52

Рисунок 15. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев.

Каудальный отдел, задняя поверхность. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – сосочковые выросты эпителия; 3 – гиалиновый хрящ. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

Рисунок 16. Слизистая трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев.

Каудальный отдел. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – экстрюзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

53

Рисунок 17. Стенка внутридолевого бронха интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – экстрюзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 18. Стенка мембранозного бронха интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; 3 – мышечная пластинка; 4 – клетки в просвете бронха; (1) – сосочковые выросты эпителия. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

Слизистая оболочка мембранозного бронха образовывала многочисленные

54

складки, эпителий в основном двурядный (рис. 18). В просвете бронха выявлялось скопление секрета и крупные клетки типа макрофагов (рис. 19).

Соединительная ткань собственной пластинки инфильтрирована лимфоцитами, часть из которых мигрировала через эпителий в просвет. В составе эпителия терминальной бронхиолы присутствовали довольно многочисленные реснитчатые клетки, число которых составляло $13,9 \pm 0,95$ (табл. 3). Клетки Клара

располагались неравномерно, часть из них имела плотные контакты с эпителиальным пластом, в ряде случаев контакт с базальной мембраной отсутствовал (рис. 20). Клетки Клара довольно крупные, их размер составлял $75,1 \pm 1,92$ мкм², площадь ядра – $23,5 \pm 0,58$ мкм².

На основании вышеизложенного можно заключить, что клеточный состав эпителия трахеи, бронхов и терминальных бронхиол в подгруппе интактных животных в возрасте 6-7 месяцев имеет типичный план строения. В эпителиальном пласте трахеи краниального отдела преобладают реснитчатые клетки и бокаловидные с высокой секреторной активностью. Число промежуточных клеток превалирует в каудальном отделе трахеи, часть из них находится в состоянии экстрезии. Базальные клетки без особенностей, их число примерно одинаковое в обоих отделах трахеи.

В подгруппе интактных животных в возрасте 19-20 месяцев, как в краниальном, так и каудальном отделах трахеи, соотношение клеточных элементов в эпителии было примерно одинаковым. Среди реснитчатых клеток присутствуют элементы, имеющие «светлую» цитоплазму. Бокаловидные клетки встречаются чаще, имеют умеренную секрецию. Отмечен более высокий уровень экстрезии эпителиоцитов, особенно во внутридолевых и мембранозных бронхах. Во всех отделах трахеобронхиального дерева чаще, чем у молодых животных, встречаются лимфоидные инфильтраты. В терминальной бронхиоле выявляются крупные клетки Клара, часть из которых утрачивает контакт с базальной мембраной.

55

Рисунок 19. Стенка терминальной бронхиолы интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многоядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; 3 – ядра реснитчатых клеток; 4 – макрофаги в просвете; 5 – ядра клеток Клара.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 1000.

Рисунок 20. Терминальная бронхиола интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев.

1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; (1) – соединительно-тканная прослойка. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

56

3.2. Морфофункциональные особенности эпителия слизистой оболочки

дыхательных путей животных разных возрастных групп при общем охлаждении организма

Слизистая оболочка воздухоносных отделов легкого при общем охлаждении организма животных в возрасте 6 – 7 месяцев сохраняла общий план строения по сравнению с группой интактных крыс, но имела следующие отличительные особенности (табл. 4). Отмечалось уменьшение числа промежуточных клеток как в краниальном отделе до $6,4 \pm 0,6$ % (интактные – $18,5 \pm 0,4$ %; $p < 0,01$), так и в каудальном отделе – до $10,3 \pm 0,8$ % (интактные – $21,2 \pm 0,5$ %; $p < 0,01$) (табл. 4). Увеличивалось количество клеток в состоянии экстрезии, большинство из этих элементов располагались в апикальной части эпителиального пласта. В краниальном отделе трахеи число клеток в состоянии экстрезии составило $5,2 \pm 0,4$ ‰ (интактные – $0,74 \pm 0,11$ ‰; $p < 0,01$), в каудальном отделе – $4,1 \pm 0,25$ ‰ (интактные – $0,92 \pm 0,17$ ‰; $p < 0,01$). Часть клеток при этом сохраняло неизмененные ядра. Их количество в краниальном отделе трахеи составило $2,9 \pm 0,27$ ‰ (интактные – $0,52 \pm 0,13$ ‰; $p < 0,01$), в каудальном отделе – $2,4 \pm 0,3$ ‰ (интактные – $0,58 \pm 0,12$ ‰; $p < 0,01$) (табл. 4).

Значительно увеличивалось число тучных клеток, мигрирующих через эпителий (рис. 21). Их число в краниальном отделе трахеи увеличивалось до $4,2 \pm 0,08$ (интактные – $1,3 \pm 0,09$; $p < 0,01$), в каудальном отделе – до $3,1 \pm 0,28$ (интактные – $1,35 \pm 0,11$; $p < 0,05$) (табл. 4).

На поверхности эпителиального пласта возрастало количество секрета, наиболее значительно в краниальном отделе трахеи. Высота эпителия по

периметру в краниальном отделе трахеи в среднем составила $32,3 \pm 0,64$ мкм (интактные – $28,7 \pm 0,37$ мкм; $p < 0,05$), в каудальном отделе – $30,9 \pm 0,8$ мкм (интактные – $26,4 \pm 0,16$ мкм; $p < 0,01$) (табл. 4). В его составе появлялись светлые реснитчатые клетки, в ряде случаев они имели измененные ядра (рис. 22, 23). Высота ресничек значимо увеличивалась в краниальном отделе трахеи до $4,5 \pm 0,08$ мкм (интактные – $4,1 \pm 0,05$ мкм; $p < 0,01$) (табл. 4).

57

Пространство между реснитчатыми клетками местами расширено, заполнено негомогенным содержимым, наблюдались многочисленные выросты мембран соседних клеток относительно друг друга (рис. 24). Достаточно часто ядра реснитчатых клеток в краниальном отделе были прижаты к базальному полюсу (рис. 25).

Таблица 4 – Морфометрические показатели эпителиального пласта и клеток слизистой трахеи и терминальной бронхиолы животных в возрасте 6 – 7 месяцев при общем охлаждении организма, $M \pm SD$

Группы животных

Показатели

Отдел трахеи

Краниальный Каудальный

Интактные Охлаждение Интактные Охлаждение

Высота эпителия, мкм $28,7 \pm 0,37$ $32,3 \pm 0,64^{**}$ $26,4 \pm 0,16$ $30,9 \pm 0,8^{**}$

Высота ресничек, мкм $4,1 \pm 0,05$ $4,5 \pm 0,08^{**}$ $3,9 \pm 0,06$ $3,8 \pm 0,04$

БК, % $15,1 \pm 0,5$ $17,5 \pm 0,55$ $14,0 \pm 0,4$ $16,1 \pm 0,7^*$

Площадь БК, мкм² $32,3 \pm 0,27$ $23,7 \pm 0,35^{**}$ $31,9 \pm 0,32$ $22,7 \pm 0,18^{**}$

Площадь ядра БК, мкм² $21,9 \pm 0,15$ $14,6 \pm 0,21^{**}$ $24,2 \pm 0,12$ $12,9 \pm 0,24^{**}$

ЭК, ‰ $0,74 \pm 0,11$ $5,2 \pm 0,4^{**}$ $0,92 \pm 0,17$ $4,1 \pm 0,25^{**}$

ЭК с неизмененными

ядрами, ‰

$0,52 \pm 0,13$ $2,9 \pm 0,27^*$ $0,58 \pm 0,12$ $2,4 \pm 0,3^{**}$

ПК, % $18,5 \pm 0,4$ $6,4 \pm 0,6^{**}$ $21,2 \pm 0,5$ $10,3 \pm 0,8^{**}$

БоК, % $19,4 \pm 0,4$ $25,4 \pm 0,75^{**}$ $16,7 \pm 0,51$ $21,8 \pm 0,3^*$

РК, % $49,4 \pm 0,9$ $46,7 \pm 0,4^*$ $44,9 \pm 0,6$ $51,4 \pm 0,7^{**}$

ТК на 100 мкм длины

эпителия

$1,3 \pm 0,09$ $4,2 \pm 0,08^{**}$ $1,35 \pm 0,11$ $3,1 \pm 0,28^*$

Терминальная бронхиола

Показатели: Интактные Охлаждение

Число РК на 100 мкм пласта эпителия $15,4 \pm 1,2$ $19,7 \pm 1,4^*$

Число КК на 100 мкм пласта эпителия $8,7 \pm 0,9$ $9,4 \pm 0,35$

Площадь КК, мкм² $68,3 \pm 2,16$ $60,1 \pm 3,42^*$

Площадь ядра КК, мкм² $22,4 \pm 0,64$ $18,5 \pm 1,2^{**}$

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении животных при общем охлаждении организма с интактными животными.

58

Рисунок 21. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы.

Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. Охлаждение в течение 14 дней. 1 – ядро реснитчатой клетки; 2 – ядро клетки в состоянии экструзии; 3 – реснички; (↓) – тучная клетка. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 8000.

Рисунок 22. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий многоядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – экструзия эпителиоцита.

Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 23. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Каудальный отдел. 1 – эпителий многоядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – светлая реснитчатая клетка; 7 – экструзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим.

Увеличение 1000.

Рисунок 24. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи у крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. Охлаждение в течение 14 дней. 1 – ядро реснитчатой клетки; 2 – межклеточное пространство; 3 – неомогенное содержимое; 4 – выросты мембраны реснитчатой клетки. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 20000.

60

Увеличивалось количество БК с каудальном отделе трахеи до $16,1 \pm 0,7 \%$ (интактные – $14,0 \pm 0,4 \%$; $p < 0,05$). Как в краниальном, так и в каудальном отделе трахеи отмечалось уменьшение их площади до $23,7 \pm 0,35 \text{ мкм}^2$ (интактные – $32,3 \pm 0,27 \text{ мкм}^2$; $p < 0,01$) и $22,7 \pm 0,18 \text{ мкм}^2$ (интактные – $31,9 \pm 0,32 \text{ мкм}^2$; $p < 0,01$) и размера ядра БК до $14,6 \pm 0,21 \text{ мкм}^2$ (интактные – $21,9 \pm 0,15 \text{ мкм}^2$; $p < 0,01$) и $12,9 \pm 0,24 \text{ мкм}^2$ (интактные – $24,2 \pm 0,12 \text{ мкм}^2$; $p < 0,01$), соответственно (табл. 4). Было отмечено **увеличение числа бокаловидных клеток, как в краниальном отделе трахеи, так и каудальном отделе до $25,4 \pm 0,75 \%$ (интактные – $19,4 \pm 0,4 \%$; $p < 0,01$) и $21,8 \pm 0,3 \%$ (интактные – $16,7 \pm 0,51 \%$; $p < 0,05$), соответственно (табл. 4).** Бокаловидные клетки были заполнены большим количеством секрета, содержащего ШИК-позитивные гранулы, а также имеющие положительную реакцию на гликозаминогликаны (рис. 26, 27). При электронной микроскопии бокаловидные клетки на поверхности имели небольшие микроворсинки и секреторные гранулы, сконцентрированные на апикальном полюсе, степень заполнения гранул секретом варьировала (рис. 28). В рыхлой соединительной ткани собственной пластинки слизистой увеличивалось количество и размер сосудов микроциркуляторного русла (рис. 29).

Стенка внутридолевого бронха имела неровный просвет. В составе эпителия выявлялись многочисленные бокаловидные клетки, количество секреторных гранул в них варьировало (рис. 30). Реакция на ШИК – позитивные вещества в основном выявлялась на апикальном полюсе. Бокаловидные клетки, преимущественно располагались очагами, в ряде участков на поверхности эпителия выявлялось большое количество секрета. Высота эпителия варьировала, ядра реснитчатых клеток в основном были прижаты к базальному полюсу. При электронно-микроскопическом изучении выявлено, что на апикальной поверхности реснитчатых клеток число ресничек небольшое, часто клетки имели светлую цитоплазму, многочисленные вакуоли и расширенные канальцы эндоплазматической сети (рис. 31). Базальные клетки располагаются группами, в каудальном отделе трахеи их количество увеличилось до $16,1 \pm 0,7 \%$ (интактные – $14,0 \pm 0,4 \%$; $p < 0,05$) (табл. 4).

61

Рисунок 25. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий многоядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – бокаловидные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

Рисунок 26. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидная клетка; (↓) – реснитчатый слой. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

62

Рисунок 27. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Кaudальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидная клетка; (↓) – реснитчатый слой. Окраска альциановым синим 8 GX по Стивдману. Увеличение 400.

Рисунок 28. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. Охлаждение в течение 14 дней. 1 – бокаловидная клетка; 2 – гранулы секрета; 3 – реснички; 4 – микроворсинки. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 25000.

63

Рисунок 29. Стенка внутридолевого бронха крысы при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Кaudальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидные клетки; 4 – хрящ; (↓) – реснитчатый слой. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

Рисунок 30. Стенка внутридолевого бронха крысы при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – ядро реснитчатой клетки; (↓) – реснитчатый слой; 4 – базальная клетка; 5 – бокаловидная клетки; 6 – вставочная клетка. Полутопкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

64

Слизистая мембранозных бронхов имела многочисленные складки. В собственной пластинке выявлялись признаки отека. Часть клеток теряла контакт с эпителиальным пластом, наблюдалась миграция этих элементов через эпителий, в просвете возрастало количество секрета, появлялись крупные макрофаги (рис. 32). В терминальной бронхиоле наблюдалось увеличение числа реснитчатых клеток на 100 мкм эпителия до $19,7 \pm 1,4$ (интактные – $15,4 \pm 1,2$; $p < 0,05$) (табл. 4).

Клетки Клара содержали многочисленные гранулы и сохраняли контакт с эпителиальным пластом. В ряде случаев наблюдался выход этих элементов в просвет (рис. 33). Площадь клетки Клара уменьшалась до $60,1 \pm 3,42$ мкм² (интактные – $68,3 \pm 2,16$ мкм²; $p < 0,05$), площадь ядра – до $18,5 \pm 1,2$ мкм² (интактные – $22,4 \pm 0,64$ мкм²; $p < 0,01$) (табл. 4).

Рисунок 31. Электронограмма стенки долевого бронха крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. Охлаждение в течение 14 дней. 1 – ядро реснитчатой клетки; 2 – митохондрии; 3 – реснички; 4 – базальная клетка; 5 – бокаловидная клетка; 6 – вставочная клетка; 7 – собственная пластинка слизистой. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 10000.

65

Рисунок 32. Стенка мембранозного бронха крысы при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка; 3 – мышечная пластинка; 4 – ядро реснитчатой клетки; 5 – секрет в просвете; 6 – макрофаги. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

Рисунок 33. Терминальная бронхиола крысы при общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – кровеносный сосуд; (↓) – базальная мембрана. Полутопкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

66

При морфологическом исследовании слизистой оболочки дыхательных путей при общем охлаждении организма старых животных (возраст 19-20 месяцев) определялась мозаичная картина в структуре эпителиального пласта, в связи с чем, количество рядов значительно варьировало. В краниальном отделе возрастала высота эпителия до $33,1 \pm 0,32$ мкм (интактные – $29,6 \pm 0,32$ мкм; $p < 0,05$). Реснитчатый слой неравномерный с высотой $5,2 \pm 0,26$ мкм (интактные – $4,25 \pm 0,08$ мкм; $p < 0,01$) (табл. 5). В структуре эпителия появлялись реснитчатые клетки со светлой цитоплазмой, в них наблюдались дистрофические изменения в

ядре (рис. 34). При изучении электронограмм реснитчатых клеток, имеющих электронно-прозрачную цитоплазму, выявлено уменьшение количества органоидов и наличие многочисленных вакуолей различного размера (рис. 35). В этих клетках отмечалось неравномерное расположение ресничек на апикальной поверхности.

В составе эпителия присутствовали клетки, имеющие электронно-плотную цитоплазму с хорошо развитыми органоидами. Большинство ядер реснитчатых клеток были прижаты к базальному полюсу (рис. 36). Число и размер базальных клеток уменьшается. В зоне их локализации в ряде случаев пространства между клетками местами были расширены, но сохранялись контакты с базальной мембраной, в которой отмечались признаки мукоидного набухания и деструктивных изменений волокнистых структур (рис. 37).

Гистохимический анализ выявил, что в эпителии наиболее значительно возрастает число бокаловидных клеток до $27,2 \pm 0,41$ % относительно экспериментального контроля, у которых данный показатель составил $21,6 \pm 0,5$ % ($p < 0,01$) (табл. 5). В большинстве из них секрет, как ШИК – позитивных веществ, так и гликозаминогликанов, заполнял в основном апикальную часть клеток и в большом количестве располагался в реснитчатом слое (рис. 38, 39).

Выявлялось значительное увеличение эпителиальных клеток в состоянии экстрезии, их число возрастает до $7,4 \pm 0,3$ ‰ (интактные – $1,24 \pm 0,2$ ‰; $p < 0,01$) (табл. 5), причем большинство этих элементов имело деструктивно измененные

ядра (рис. 40). Значительно возросло количество мигрирующих тучных клеток, 7

67

большинство 7 из которых содержало многочисленные гранулы. Число этих клеток в эпителии составило $3,1 \pm 0,07$ (интактные – $0,89 \pm 0,08$; $p < 0,01$) (табл. 5).

В каудальном отделе трахеи более часто наблюдались изменения структуры эпителиального пласта. В ряде случаев размер и форма клеток варьировал. Реснитчатый слой неравномерный, так как отдельные клетки практически утрачивали реснички и появлялись зоны, где преимущественно располагались микроворсинки (рис. 41).

Таблица 5 – Морфометрические показатели эпителиального пласта и клеток слизистой трахеи и терминальной бронхиолы животных в возрасте 19 – 20 месяцев при общем охлаждении организма, $M \pm SD$

Показатели

Краниальный отдел Каудальный отдел

Интактные Охлаждение Интактные Охлаждение

Высота эпителия, мкм $29,6 \pm 0,32$ $33,1 \pm 0,51^*$ $28,4 \pm 0,21$ $30,1 \pm 1,04$

Высота ресничек, мкм $4,25 \pm 0,08$ $5,2 \pm 0,26^{**}$ $4,38 \pm 0,12$ $4,0 \pm 0,27$

БК, % $12,7 \pm 0,4$ $10,7 \pm 0,6$ $12,1 \pm 0,3$ $10,1 \pm 0,4^*$

Площадь БК, мкм² $30,8 \pm 0,32$ $22,7 \pm 0,3^{**}$ $28,7 \pm 0,35$ $25,1 \pm 0,21^*$

Площадь ядра БК, мкм² $20,0 \pm 0,18$ $12,1 \pm 0,18^{**}$ $20,8 \pm 0,24$ $10,7 \pm 0,14^{**}$

ЭЭК, ‰ $1,24 \pm 0,2$ $7,4 \pm 0,3^{**}$ $1,36 \pm 0,17$ $5,8 \pm 0,4^{**}$

ЭЭК с неизменными

ядрами, ‰

$0,68 \pm 0,17$ $3,1 \pm 0,29^*$ $0,65 \pm 0,2$ $2,6 \pm 0,35^{**}$

ПК, % $13,7 \pm 0,6$ $9,8 \pm 0,4^{**}$ $14,8 \pm 0,7$ $10,7 \pm 0,35^*$

БоК, % $21,6 \pm 0,5$ $27,2 \pm 0,41^{**}$ $22,1 \pm 0,3$ $26,9 \pm 0,24^*$

РК, % $44,7 \pm 0,7$ $47,1 \pm 0,74$ $43,1 \pm 0,5$ $43,9 \pm 0,65$

ТК на 100 мкм длины

эпителия

$0,89 \pm 0,08$ $3,1 \pm 0,07^{**}$ $0,77 \pm 0,05$ $2,8 \pm 0,09^{**}$

Терминальная бронхиола

Показатели Интактные Охлаждение

Число РК на 100 мкм пласта эпителия $13,9 \pm 0,95$ $18,4 \pm 1,2^{**}$

Число КК на 100 мкм пласта эпителия $8,2 \pm 0,4$ $9,8 \pm 0,6$

Площадь КК, мкм² 75,1±1,92 57,2±2,2**

Площадь ядра КК, мкм² 23,5±0,58 19,4±2,1*

Примечание: *p<0,05; ** p<0,01 –

значимость различий при
сравнении животных при
общем охлаждении
организма с интактными
животными.

68

Рисунок 34. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многоядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – светлая реснитчатая клетка; 5 – экструзия эпителиоцита; 6 – тучная клетка. Полутонок срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 4 1000.

Рисунок 35. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при общем охлаждении. Возраст 19 – 20 месяцев. Краниальный отдел. 1 – реснитчатая клетка; 2 – реснички; 3 – светлая реснитчатая клетка; 4 – базальная клетка; 5 – вставочная клетка; 6 – экструзия; 7 – базальная мембрана. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 4500.

69

Рисунок 36. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий многоядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – экструзия. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

Рисунок 37. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при общем охлаждении организма 1. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – вставочная клетка; 4 – межклеточное пространство; 5 – базальная мембрана. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 7500.

70

Рисунок 38. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; (↓) – бокаловидные клетки на различной стадии секреции. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

Рисунок 39. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидная клетка; (↓) – реснитчатый слой. Окраска альциановым синим 8 GX по Сидмэну с докраской ядер кармином. Увеличение 400.

71

Рисунок 40. Электронограмма апикальной части эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при общем охлаждении организма 1. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – реснички; 3 – митохондрии; 4 – эпителиоцит в стадии экструзии. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 8000.

Рисунок 41. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при общем охлаждении организма 1. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – единичные реснички; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – вакуоли; 5 – каналцы эндоплазматической сети. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 10000.

72

В составе эпителия выявлялись реснитчатые клетки со светлой цитоплазмой и крупным ядром. В ряде случаев ядра клеток были деструктивно изменены (рис.

42, 43). Между клетками в эпителии межклеточные пространства имели зоны расширения, которые заполнены большим количеством негомогенного содержимого (рис. 44). Большинство тучных клеток содержали многочисленные гранулы, они мигрировали из рыхлой соединительной ткани поодиночке, их число в эпителии составило $2,8 \pm 0,09$ (интактные – $0,77 \pm 0,05$; $p < 0,01$) (табл. 5). В рыхлой соединительной ткани выявлялись очаги мукоидного набухания и деструкции волокнистых структур. Большинство кровеносных сосудов расширены, в их просвете выявлялось скопление форменных элементов крови. В базальной мембране капилляров наблюдались признаки отека (рис. 45). Стенка внутридолевого бронха имела выраженную складчатость слизистой. Нередко в апикальной части эпителия при окраске эозином выявлялась ярко оксифильная окраска. В составе эпителия часть реснитчатых клеток имела светлую цитоплазму. Наблюдалась выраженная очаговая инфильтрация собственной пластинки слизистой и миграция клеток в просвет бронха (рис. 46). Эпителий мембранозного бронха в основном состоял из двух рядов, в просвете выявлялось большое количество секрета и многочисленные клетки, часть из которых являлись макрофагами (рис. 47). Реснитчатые клетки мембранозных бронхов имели светлую цитоплазму, реснички располагались неравномерно, в некоторых участках они полностью отсутствовали (рис. 48). Наблюдалась вакуолизация цитоплазмы, деструктивные изменения ядра, а также экструзия вставочных клеток в просвет. Базальные клетки располагались неравномерно в эпителии. В подлежащей соединительной ткани присутствовали многочисленные лимфоциты. Тучные клетки располагались поодиночке, в структуре эпителия выявлялись многочисленные базофильно окрашенные гранулы. В эпителии терминальной бронхиолы статистически достоверно возросло количество реснитчатых клеток до $18,4 \pm 1,2$ (экспериментальный контроль – $13,9 \pm 0,95$; $p < 0,01$) (табл. 5), часть из которых имела дистрофически измененные ядра (рис. 49).

73

Рисунок 42. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – светлая реснитчатая клетка; 3 – базальная клетка; 4 – тучная клетка; 5 – экструзия; (↓) – реснитчатый слой. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 43. Слизистая трахеи крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – светлая реснитчатая клетка; 3 – базальная клетка; 4 – экструзия; (↓) – реснитчатый слой. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

74

Рисунок 44. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при общем охлаждении организма **1**. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – ядро реснитчатой клетки; 3 – межклеточные пространства. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 12000.

Рисунок 45. Электронограмма собственной пластинки слизистой трахеи крысы при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – кровеносный капилляр; 2 – эндотелиоцит; 3 – эритроциты; 4 – базальная мембрана; 5 – рыхлая соединительная ткань. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 9000.

75

Рисунок 46. Стенка внутридолевого бронха крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – инфильтрация лейкоцитами соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

Рисунок 47. Электронограмма эпителия слизистой оболочки долевого бронха крысы при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – ядро реснитчатой клетки; 3 – реснички; 4 – вакуоли в

цитоплазме; 5 – базальная клетка; 6 – вставочная клетка в состоянии экстрюзии; 7 – соединительная ткань. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 7000.

76

Рисунок 48. Стенка мембранозного бронха крыс при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – базальные клетки; 3 – экстрюзия; 4 – собственная пластинка; 5 – инфильтрация соединительной ткани; (1) – реснитчатый слой. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 49. Терминальная бронхиола крысы при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – секрет в просвете бронха; 4 – клетки в просвете бронха. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

77

Рисунок 50. Терминальная бронхиола крысы при общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – кровеносный сосуд; (1) – базальная мембрана. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Клетки Клара в основном сохраняли контакт с эпителием, содержали небольшое число секреторных гранул, их размер и площадь ядра уменьшались до $57,2 \pm 2,2$ мкм² и $19,4 \pm 2,1$ мкм² (интактные – $75,1 \pm 1,92$ мкм² ($p < 0,01$) и $23,5 \pm 0,58$ мкм² ($p < 0,05$), соответственно (табл. 5). Базальная мембрана эпителия в некоторых участках практически отсутствовала. Кровеносные сосуды в соединительной ткани были расширены (рис. 50).

При охлаждении организма в структуре эпителиального пласта появлялись реснитчатые клетки с прозрачной цитоплазмой и дистрофическими изменениями ядра. Размер ядра и площадь базальных клеток достоверно уменьшался. В эпителиальном пласте появлялись многочисленные тучные клетки. В терминальной бронхиоле часть реснитчатых клеток были дистрофически изменены.

Следовательно, при действии низкой температуры на стадии адаптивного напряжения общий план строения эпителиального пласта у животных в разных возрастных группах сохранен, однако отмечается перераспределение клеточного состава. В базальной мембране эпителия выявляются очаговые признаки

78

деполимеризации и отека.

В группе животных в возрасте 6 – 7 месяцев на фоне повышения уровня экстрюзии наблюдается резкое снижение промежуточных клеток, увеличивается число бокаловидных клеток, повышается их секреторная активность, как в трахее, так и бронхах. Возрастает миграция тучных клеток в эпителиальном пласте, в части из них наблюдается дегрануляция. В терминальных бронхиолах возрастает число реснитчатых клеток. Размер клетки и площадь ядра клеток Клара уменьшается.

У животных в возрасте 19 – 20 месяцев уровень регенерационной активности эпителия снижается более значительно, о чем свидетельствует уменьшение числа, площади базальной клетки и ее ядра, усиление экстрюзии эпителиоцитов, а также уменьшение морфометрических показателей клеток Клара. Направление дифференцировки изменяется в сторону роста числа бокаловидных клеток, как в трахее, так и бронхах. В составе реснитчатых клеток возрастает число элементов имеющих дистрофически измененные ядра, вакуолизированную цитоплазму и расширенные межклеточные пространства. Значительно чаще встречаются тучные клетки в контакте со светлыми эпителиоцитами и признаками дегрануляции.

3.3. Морфофункциональные особенности эпителия слизистой оболочки

дыхательных путей животных разных возрастных групп при применении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма

В краниальном отделе трахеи в условиях эксперимента введение дигидрохверцетина приводило к увеличению рядности в эпителиальном пласте воздухоносных путей у молодых животных (рис. 51). Уровень экстррузии эпителиальных клеток уменьшался (рис. 52) как в краниальном отделе трахеи до $4,7 \pm 0,2 \%$ (экспериментальный контроль – $5,2 \pm 0,4 \%$; $p < 0,05$), так и каудальном отделе до $3,7 \pm 0,2 \%$ (экспериментальный контроль – $4,1 \pm 0,25 \%$; $p < 0,05$), причем на этом фоне число клеток с неизменными ядрами возрастало до $3,8 \pm$

79
 $0,2 \%$ (экспериментальный контроль – $2,9 \pm 0,27 \%$; $p < 0,01$). В эпителии снижалось число тучных клеток до $2,8 \pm 0,15$ (экспериментальный контроль – $4,2 \pm 0,08$; $p < 0,01$) (табл. 6).

Таблица 6 – Морфометрические показатели клеток слизистой трахеи и терминальной бронхиолы животных в возрасте 6 – 7 месяцев при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма, $M \pm SD$

Группы животных

Показатели

Краниальный отдел Каудальный отдел

Охлаждение Охлаждение

и дигидро-

хверцетин

Охлаждение Охлаждение

и дигидро-

хверцетин

Высота эпителия, мкм $32,3 \pm 0,64$ $30,1 \pm 0,29^*$ $30,9 \pm 0,8$ $28,2 \pm 0,42^*$

Высота ресничек, мкм $4,5 \pm 0,08$ $4,3 \pm 0,18^*$ $3,8 \pm 0,04$ $4,0 \pm 0,09$

БК, % $17,5 \pm 0,55$ $15,4 \pm 0,5$ $16,1 \pm 0,7$ $14,7 \pm 0,3$

Площадь БК, мкм² $23,7 \pm 0,35$ $29,7 \pm 0,42^{**}$ $22,7 \pm 0,18$ $25,3 \pm 0,2^{**}$

Площадь ядра БК, мкм² $14,6 \pm 0,21$ $20,8 \pm 0,38^{**}$ $12,9 \pm 0,24$ $20,4 \pm 0,52^{**}$

ЭЭК, ‰ $5,2 \pm 0,4$ $4,7 \pm 0,2^*$ $4,1 \pm 0,25$ $3,7 \pm 0,2^*$

ЭЭК с неизменными

ядрами, ‰

$2,9 \pm 0,27$ $3,8 \pm 0,2^{**}$ $2,4 \pm 0,3$ $2,7 \pm 0,15$

ПК, % $6,4 \pm 0,6$ $13,3 \pm 0,7^{**}$ $10,3 \pm 0,8$ $14,5 \pm 0,4^{**}$

БоК, % $25,4 \pm 0,75$ $20,2 \pm 0,4^{**}$ $21,8 \pm 0,3$ $17,9 \pm 0,5^{**}$

РК, % $46,7 \pm 0,4$ $49,9 \pm 1,05^*$ $51,4 \pm 0,7$ $50,8 \pm 0,85$

ТК на 100 мкм длины

эпителия

$4,2 \pm 0,08$ $2,8 \pm 0,15^{**}$ $3,1 \pm 0,28$ $2,0 \pm 0,32^*$

Терминальная бронхиола

Показатели Охлаждение Охлаждение и

дигидрохверцетин

Число РК на 100 мкм пласта

эпителия $19,7 \pm 1,4$ $18,7 \pm 1,1$

Число КК на 100 мкм пласта

эпителия $9,4 \pm 0,35$ $12,4 \pm 0,47^{**}$

Площадь КК, мкм² $60,1 \pm 3,42$ $70,4 \pm 2,36^{**}$

Площадь ядра КК, мкм² $18,5 \pm 1,2$ $22,8 \pm 0,91^*$

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении животных при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма с животными при общем охлаждении организма.

В составе эпителиального пласта присутствовали в основном реснитчатые клетки с умеренно светлой цитоплазмой. На их апикальном полюсе большое количество мелких вакуолей, содержимое которых электронно-прозрачно. Здесь же

локализовались митохондрии, имеющие плотный матрикс (рис. 53). Ядра реснитчатых клеток имели типичное строение, в ряде случаев наблюдались глубокие инвагинации, появлялись небольшие очаговые расширения перинуклеарного пространства. Хроматин мелкозернистого характера, преимущественно расположен под оболочкой ядра (рис. 54). Часть клеток имела хорошо развитую гранулярную эндоплазматическую сеть и электронноплотную цитоплазму (рис. 55). Число промежуточных элементов увеличивалось до $13,3 \pm 0,7$ % (экспериментальный контроль – $6,4 \pm 0,6$ %; $p < 0,01$) (табл. 6). В каудальном отделе трахеи в эпителии появлялись сосочковые выросты. Реснитчатый слой имел различную высоту, особенно на вентральной поверхности. В соединительной ткани и в эпителии выявлялись немногочисленные тучные клетки. Интенсивность экстррузии снижалась, причем большинство клеток имели неизменные ядра (рис. 56). Число базальных клеток значимо не изменялось, но при этом, как в краниальном, так и каудальном отделе наблюдалось увеличение размера площади клетки до $29,7 \pm 0,42$ мкм² и $25,3 \pm 0,2$ мкм² (экспериментальный контроль – $23,7 \pm 0,35$ мкм² ($p < 0,01$) и $22,7 \pm 0,18$ мкм² ($p < 0,01$), соответственно, площади ядра до $20,8 \pm 0,38$ мкм² и $20,4 \pm 0,52$ мкм² (экспериментальный контроль – $14,6 \pm 0,21$ мкм² ($p < 0,01$) и $12,9 \pm 0,24$ мкм² ($p < 0,01$), соответственно (табл. 6).

Число бокаловидных клеток снижалось, как в краниальном, так и каудальном отделе до $20,2 \pm 0,4$ % и $17,9 \pm 0,5$ % (экспериментальный контроль – $25,4 \pm 0,75$ % ($p < 0,01$) и $21,8 \pm 0,3$ % ($p < 0,01$), соответственно (табл. 6).

Бокаловидные клетки, секретирующие как нейтральные полисахариды, так и гликозаминогликаны, небольшого размера, располагались очагами и были заполнены секретом в апикальной части (рис. 57, 58). Количество секрета на поверхности ресничек умеренное.

Рисунок 51. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина на фоне общего охлаждения. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – светлая реснитчатая клетка; 5 – ядро базальной клетки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

Рисунок 52. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – ядро реснитчатой клетки; 2 – ядро базальной клетки; 3 – экстррузия эпителиоцита; 4 – светлая реснитчатая клетка; (1) – реснитчатый слой; 5 – собственная пластинка. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 53. Электронограмма апикальной части реснитчатой клетки трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – митохондрии; 2 – вакуоли; 3 – реснички; 4 – микроворсинки. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 22000.

Рисунок 54. Электронограмма реснитчатой клетки трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – ядро; 2 – инвагинации ядра; 3 – перинуклеарное пространство; 4 – митохондрии; (1) – клеточная оболочка. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 35000.

Рисунок 55. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – светлая реснитчатая клетка; 2 – базальная клетка; 3 – ядро; 4 – собственная пластинка слизистой. Заливка в аралдит, эпон. Окраска

уриилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 22000.

Рисунок 56. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Каудальный отдел. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – экструзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

84

Рисунок 57. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидная клетка; (1) – реснитчатый слой. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

Рисунок 58. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидные клетки; (1) – реснитчатый слой. Окраска альциановым синим по Сидмэну с докраской ядер кармином. Увеличение 400.

85

В мембранозных бронхах наблюдалось умеренная складчатость слизистой. Эпителий в основном располагался в 2–3 ряда. Зоны инфильтрации локализовались в перибронхиальной соединительной ткани. В просвете небольшое количество секрета (рис. 59). В терминальной бронхиоле четко выявлялась базальная мембрана с большим количеством продуктов реакции на ШИК – позитивные вещества. В составе эпителия бронхиолы выявлялся рост числа клеток Клара до $12,4 \pm 0,47$ (экспериментальный контроль – $9,4 \pm 0,35$; $p < 0,01$). Площадь клетки Клара увеличивалась до $70,4 \pm 2,36$ (экспериментальный контроль – $60,1 \pm 3,42$; $p < 0,01$) и размер ее ядра до $22,8 \pm 0,91$ (экспериментальный контроль – $18,5 \pm 1,2$; $p < 0,05$) (табл. 6). Большинство клеток Клара сохраняло контакт с базальной мембраной эпителиального пласта (рис. 60). Реснитчатые клетки имели светлую цитоплазму и крупное ядро. В ряде случаев наблюдалась картина митоза (рис. 61).

Рисунок 59. Стенка мембранозного бронха крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – мышечная пластинка; 3 – секрет в просвете бронха; 4 – инфильтрация соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

86

Рисунок 60. Терминальная бронхиола крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – ядро реснитчатой клетки; 2 – клетки Клара; 3 – соединительная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 1000.

Рисунок 61. Терминальная бронхиола крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – кровеносный сосуд; (1) – базальная мембрана.

Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Введение дигидрохверцетина при общем охлаждении организма у старых

87

животных (возраст 19 – 20 недель) приводило к умеренному росту числа реснитчатых клеток в каудальном отделе трахеи до $47,1 \pm 0,5$ % (экспериментальный контроль – $43,9 \pm 0,65$ %; $p < 0,05$) (табл. 7), которые в основном имели типичное строение, на апикальной поверхности находились многочисленные реснички. Ядра этих клеток крупные, с мелкозернистым хроматином (рис. 62 А). Некоторые реснитчатые клетки имели светлую цитоплазму, в них выявлялось небольшое уплотненное ядро. Между

реснитчатыми клетками располагались эпителиоциты в состоянии экстрюзии (рис. 62 Б), их число, как в краниальном, так и каудальном отделе трахеи увеличивалось до $3,8 \pm 0,19 \%$ (экспериментальный контроль – $3,1 \pm 0,29 \%$; $p < 0,05$) и $3,9 \pm 0,15 \%$ (экспериментальный контроль – $2,6 \pm 0,35 \%$; $p < 0,05$) (табл. 7). Большинство из них имели неизменные ядра, типичные для промежуточных клеток. Количество базальных клеток в краниальном отделе трахеи увеличивалось до $12,5 \pm 0,5 \%$ (экспериментальный контроль – $10,7 \pm 0,6 \%$; $p < 0,05$). Они располагались группами, имели типичное строение. Их площадь составила $28,4 \pm 0,27 \text{ мкм}^2$, что выше чем в группе экспериментального контроля ($22,7 \pm 0,3 \%$; $p < 0,01$). Площадь ядра в краниальном отделе трахеи увеличивалась до $21,2 \pm 0,5 \text{ мкм}^2$ (экспериментальный контроль – $12,1 \pm 0,18 \text{ мкм}^2$; $p < 0,01$), в каудальном отделе – до $18,3 \pm 0,6 \text{ мкм}^2$ (экспериментальный контроль – $10,7 \pm 0,14 \text{ мкм}^2$; $p < 0,01$) (табл. 7). В зоне контактов между клетками эпителия появлялись очаговые расширения (рис. 63).

Число тучных клеток в составе эпителия уменьшалось в краниальном отделе трахеи до $2,3 \pm 0,08$ (экспериментальный контроль – $3,1 \pm 0,07$; $p < 0,05$), в каудальном отделе – до $1,9 \pm 0,07$ (экспериментальный контроль – $2,89 \pm 0,09$; $p < 0,05$). Количество бокаловидных клеток в краниальном отделе трахеи снижалось до $24,3 \pm 0,33 \%$ (экспериментальный контроль – $27,2 \pm 0,41 \%$; $p < 0,05$) (табл. 7).

Секреторные клетки в основном содержали ШИК – позитивные вещества, которые в умеренном количестве заполняли апикальную часть (рис. 64). Гранулы, содержащие гликозаминогликаны, располагались в реснитчатом слое, в самих

88

бокаловидных клетках количество секрета было незначительное и выявлялось только в апикальной части (рис. 65). В соединительной ткани собственной пластинки определялись очаги уплотнения, содержащие многочисленные коллагеновые волокна (рис. 62 Б).

Таблица 7 – Морфометрические показатели клеток слизистой трахеи и терминальной бронхиолы животных в возрасте 19 – 20 месяцев при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма, $M \pm SD$

Группы животных

Показатели

Краниальный отдел Каудальный отдел

Охлаждение Охлаждение

и дигидро-

хверцетин

Охлаждение Охлаждение

и дигидро-

хверцетин

Высота эпителия, мкм $33,1 \pm 0,51$ $30,4 \pm 0,98$ $30,1 \pm 1,04$ $27,2 \pm 0,38^*$

Высота ресничек, мкм $5,2 \pm 0,26$ $4,6 \pm 0,15^*$ $4,0 \pm 0,27$ $5,1 \pm 0,19^{**}$

БК, % $10,7 \pm 0,6$ $12,5 \pm 0,5^*$ $10,1 \pm 0,4$ $11,4 \pm 0,4$

Площадь БК, мкм^2 $22,7 \pm 0,3$ $28,4 \pm 0,27^{**}$ $25,1 \pm 0,21$ $25,7 \pm 0,48$

Площадь ядра БК, мкм^2 $12,1 \pm 0,18$ $21,2 \pm 0,5^{**}$ $10,7 \pm 0,14$ $18,3 \pm 0,6^{**}$

ЭК, % $7,4 \pm 0,3$ $6,0 \pm 0,39^*$ $5,8 \pm 0,4$ $5,2 \pm 0,22$

ЭК с неизменными

ядрами, %

$3,1 \pm 0,29$ $3,8 \pm 0,19^*$ $2,6 \pm 0,35$ $3,9 \pm 0,15^{**}$

ПК, % $9,8 \pm 0,4$ $10,4 \pm 0,35$ $10,7 \pm 0,35$ $12,8 \pm 0,38^*$

БоК, % $27,2 \pm 0,41$ $24,3 \pm 0,33^*$ $26,9 \pm 0,24$ $25,7 \pm 0,42$

РК, % $47,1 \pm 0,74$ $50,7 \pm 0,82$ $43,9 \pm 0,65$ $47,1 \pm 0,5^*$

ТК на 100 мкм длины

эпителия

$3,1 \pm 0,07$ $2,3 \pm 0,08^*$ $2,8 \pm 0,09$ $1,9 \pm 0,07^*$

Терминальная бронхиола

Показатели Охлаждение Охлаждение и дигидрохверцетин

Число РК на 100 мкм пласта эпителия $18,4 \pm 1,2$ $13,7 \pm 0,8^{**}$

Число КК на 100 мкм пласта эпителия $9,8 \pm 0,6$ $10,5 \pm 0,47$

Площадь КК, мкм² $57,2 \pm 2,2$ $87,7 \pm 3,4^{**}$

Площадь ядра КК, мкм² $19,4 \pm 2,1$ $24,1 \pm 1,1^*$

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении животных при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма с животными при общем охлаждении организма.

89

А

Б

Р

и

с

у

н

о

к 62. А, Б. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многоядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – светлая реснитчатая клетка; 7 – экструзия эпителиоцита; 8 – кровеносный сосуд.

Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 38 1000.

Рисунок 63. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – промежуточная клетка; 4 – реснитчатая клетка; 5 – базальная мембрана. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 11000.

90

Рисунок 64. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; (↓) – бокаловидные клетки. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

Рисунок 65. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидные клетки; 4 – гиалиновый хрящ; (↓) – реснитчатый слой. Окраска альциановым синим 8 GX по Стивдэну с докраской ядер кармином. Увеличение 400.

91

В эпителиальном пласте изменялась высота реснитчатого слоя: в краниальном отделе трахеи уменьшалась до $4,6 \pm 0,15$ мкм (экспериментальный контроль – $5,2 \pm 0,26$ мкм; $p < 0,05$), в каудальном отделе увеличивалась $5,1 \pm 0,19$ мкм (экспериментальный контроль – $4,0 \pm 0,27$ мкм; $p < 0,01$) (табл. 7). Реснитчатый слой в некоторых участках отсутствовал, выявлялось большое количество ШИК-положительных веществ. Реснитчатые клетки в основном имели типичное строение и крупные светлые ядра. Промежуточные клетки располагались на различных уровнях, большая часть локализовалась в апикальной части эпителиального пласта (рис. 66). Их количество в каудальном отделе трахеи увеличивалось до $12,8 \pm 0,38$ % (экспериментальный контроль – $10,7 \pm 0,35$ %; $p < 0,05$). Базальные клетки в эпителиальном пласте чаще располагались поодиночке, имели крупное ядро, площадь которого в краниальном отделе трахеи составила $21,2 \pm 0,23$,5 мкм² (экспериментальный контроль – $12,1 \pm 0,18$ %; $p < 0,01$), в

каудальном отделе – $18,3 \pm 0,6$ мкм² (экспериментальный контроль – $10,7 \pm 0,14$ мкм²; $p < 0,01$) (табл. 7). Тучные клетки, как в эпителиальном пласте, так и в подлежащей соединительной ткани располагались поодиночке и содержали большое количество базофильно-окрашенных гранул (рис. 66). Их количество в краниальном отделе трахеи увеличивалось до $2,3 \pm 0,08$ (экспериментальный контроль – $3,1 \pm 0,07$; $p < 0,05$), в каудальном отделе – до $1,9 \pm 0,07$ (экспериментальный контроль – $2,8 \pm 0,09$; $p < 0,05$) (табл. 7). Эпителий внутридольевого бронха образовывал сосочковые выросты, количество рядов в нем варьировало (рис. 67). Большинство реснитчатых клеток имели более светлую цитоплазму и крупные ядра. Выявлялись зоны экстрюзии эпителиоцитов (рис. 68). Количество бокаловидных клеток уменьшалось в краниальном отделе трахеи до $24,3 \pm 0,33$ % (экспериментальный контроль – $27,2 \pm 0,41$ %; $p < 0,05$) (табл. 7). Большинство из них содержало небольшое число гранул секрета – гликозаминогликаны в апикальной части. Здесь же обнаруживались единичные мигрирующие клетки (рис. 69). Мембранозный бронх в просвете содержал значительное количество секрета, имеющего оксифильную окраску и единичные макрофаги, а также клетки, которые утратили контакт с

92

эпителиальным пластом (рис. 70).

В терминальной бронхиоле большинство реснитчатых клеток имело типичные план строения, в некоторых из них встречались деструктивно измененные ядра (рис. 71). Их число в пласте эпителия уменьшалось до $13,7 \pm 0,8$ (экспериментальный контроль – $18,4 \pm 1,2$; $p < 0,01$). Площадь клетки Клара и площадь ядра увеличивалась до $87,7 \pm 3,4$ мкм² (экспериментальный контроль – $57,2 \pm 2,2$ мкм²; $p < 0,01$) и $24,1 \pm 1,1$ мкм² (экспериментальный контроль – $19,4 \pm 0,9$ мкм²; $p < 0,05$) (табл. 7). Клетки Клара сохраняли контакт с эпителиальным пластом. В базальной мембране выявлялось очаговое усиление интенсивности окраски на гликозаминогликаны.

Рисунок 66. Слизистая трахеи крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Каудальный отдел. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – экстрюзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

93

Рисунок 67. Стенка внутридольевого бронха крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – экстрюзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 68. Электронограмма эпителия внутридольевого бронха крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – ядро реснитчатой клетки; 3 – реснички; 4 – митохондрии; 5 – эпителиоцит в состоянии экстрюзии. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 8000.

94

Рисунок 69. Стенка внутридольевого бронха крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий; (↓) – бокаловидные клетки; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – мышечная пластинка. Окраска альтиановым синим по Стивдману. Увеличение 400.

Рисунок 70. Стенка мембранозного бронха крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 –

ядра реснитчатых клеток; 2 – ядро клетки Клара; 3 – мигрирующие клетки в просвете; 4 – секрет в просвете бронха. Окраска гематоксилином и эозином.

Увеличение 400.

95

Рисунок 71. Терминальная бронхиола крысы при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – макрофаг; (1) – базальная мембрана. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Таким образом, применение дигидрохверцетина на фоне общего охлаждения у животных в возрасте 6-7 месяцев приводит к восстановлению структуры реснитчатых клеток, в основном имеющих типичный план строения. Увеличивается площадь базальной клетки и размер ее ядра. Секреторная активность бокаловидных клеток снижается. Хотя уровень экстрюзии эпителиоцитов остается на высоком уровне, в их составе возрастает число промежуточных клеток, имеющих неизменные ядра. В эпителии терминальных бронхиол возрастает число и размер клеток Клара.

У старых животных большинство реснитчатых эпителиоцитов сохраняет типичный план строения. Секреция бокаловидных клеток снижается, сохраняя высокий уровень продукции ШИК – позитивных веществ. Снижается уровень экстрюзии эпителиоцитов и число тучных клеток в составе эпителиального пласта. Во внутридолевых бронхах часть реснитчатых клеток имеет светлую цитоплазму. В терминальных бронхиолах возрастает митотическая активность клеток Клара, о чем свидетельствует увеличение их размера и площади ядра.

96

3.4. Морфофункциональные особенности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей животных разных возрастных групп при применении арабиногалактана и общем охлаждении организма

Введение арабиногалактана на фоне общего охлаждения организма молодых животных приводило к изменению морфоструктуры эпителия слизистой оболочки дыхательных путей по сравнению с экспериментальным контролем, которое проявлялось в следующем. В краниальном отделе трахеи выявлялись сосочковые выросты, в связи с чем, появлялись участки с увеличением рядности в составе эпителиального пласта. В краниальном отделе увеличивалась высота ресничек до $4,2 \pm 0,07$ мкм (экспериментальный контроль – $4,5 \pm 0,08$ мкм, $p < 0,05$) (табл. 8). Большинство реснитчатых клеток имело типичный план строения, при этом в их цитоплазме многочисленные каналцы эндоплазматической сети местами были расширены, выявлялось умеренное число вакуолей.

Ядра клеток обычно имели изрезанный контур, хроматин мелкозернистый и преимущественно располагался под ядерной оболочкой (рис. 72). Число «светлых» реснитчатых клеток было незначительным, в некоторых из них выявлялись немногочисленные реснички (рис. 73). Уровень общей экстрюзии эпителиальных клеток значимо не изменялся по сравнению с экспериментальным контролем, тогда как уровень экстрюзии клеток с неизменными ядрами увеличивался как в краниальном отделе, так и каудальном отделе трахеи до $3,9 \pm 0,19$ ‰ (экспериментальный контроль – $2,9 \pm 0,27$ ‰, $p < 0,05$) и $3,0 \pm 0,3$ ‰ (экспериментальный контроль – $2,4 \pm 0,3$ ‰, $p < 0,05$) соответственно (табл. 8).

Число промежуточных клеток в краниальном отделе увеличивалось до $9,7 \pm 0,3$ % (экспериментальный контроль – $6,4 \pm 0,6$ %, $p < 0,05$), базальных клеток уменьшалось до $15,2 \pm 0,4$ % (экспериментальный контроль – $17,5 \pm 0,55$ %, $p < 0,05$). Площадь базальной клетки и ее ядра увеличивалась как в краниальном отделе 3 до $25,8 \pm 0,22$ мкм² (экспериментальный контроль – $23,7 \pm 0,35$ мкм²; $p < 0,05$) и $18,7 \pm 0,18$ мкм² (экспериментальный контроль – $14,6 \pm 0,21$ мкм², $p < 0,01$), так и каудальном отделе до $24,7 \pm 0,3$ мкм² (экспериментальный контроль

97

– 22,7 ± 0,18 мкм2, p<0,05) и 17,2 ± 0,38 мкм2 (экспериментальный

контроль – 12,9 ± 0,24 мкм2, p<0,01), соответственно. Базальные клетки

содержали довольно плотный хроматин, в них выявлялось ядрышко, в цитоплазме

присутствовали немногочисленные митохондрии (рис. 74).

Таблица 8 – Морфометрические показатели эпителиального пласта и клеток

слизистой трахеи и терминальной бронхиолы животных в возрасте 6 – 7 месяцев

при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма, M±SD

Группы животных

Показатели

Краниальный отдел Каудальный отдел

Охлаждение Охлаждение

и арабино-

галактан

Охлаждение Охлаждение

и арабино-

галактан

Высота эпителия, мкм 32,3±0,64 33,1±0,19 30,9±0,8 30,1±0,32

Высота ресничек, мкм 4,5±0,08 4,2±0,07* 3,8±0,04 3,75±0,02

БК, % 17,5±0,55 15,2±0,4* 16,1±0,7 15,1±0,38

Площадь БК, мкм2 23,7±0,35 25,8±0,22* 22,7±0,18 24,7±0,3*

Площадь ядра БК, мкм2 14,6±0,21 18,7±0,18** 12,9±0,24 17,2±0,38**

ЭЭК, ‰ 5,2±0,4 4,7±0,08 4,1±0,25 3,9±0,21

ЭЭК с неизмененными

ядрами, ‰

2,9±0,27 3,9±0,19* 2,4±0,3 3,0±0,3*

ПК, % 6,4±0,6 9,7±0,3* 10,3±0,8 13,2±0,4

БоК, % 25,4±0,75 24,1±0,24 21,8±0,3 22,3±0,42

РК, % 46,7±0,4 47,1±0,6 51,4±0,7 48,2±0,4*

ТК на 100 мкм длины

эпителия

4,2±0,08 2,95±0,12** 3,1±0,28 2,05±0,28*

Терминальная бронхиола

Показатели Охлаждение Охлаждение и

арабиногалактан

Число РК на 100 мкм пласта эпителия 19,7±1,4 17,4±0,9

Число КК на 100 мкм пласта эпителия 9,4±0,35 8,1±0,3

Площадь КК, мкм2 60,1±3,42 75,5±4,03**

Площадь ядра КК, мкм2 18,5±1,2 23,4±1,1*

Примечание: *p<0,05; ** p<0,01 – значимость различий при сравнении группы животных при

введении арабиногалактана и общем охлаждении организма с группой животных при общем

охлаждении организма.

Уменьшалось число тучных клеток, мигрирующих через эпителий, как в

краниальном отделе до 2,95 ± 0,12 (экспериментальный контроль – 4,2 ± 0,08;

p<0,01), так и каудальном отделе трахеи до 2,05 ± 0,28 (экспериментальный

контроль – 3,1 ± 0,28; p<0,05) (табл. 8). Тучные клетки содержали

98

немногочисленные базофильно окрашенные гранулы. Местами была увеличена

плотность рыхлой соединительной ткани в собственной пластинке, сосуды

микроциркуляторного русла были умеренно расширены. В краниальном отделе

трахеи увеличивалось число промежуточных клеток до 9,7 ± 0,3 %

(экспериментальный контроль – 6,4 ± 0,6 %; p<0,05) (табл. 8), часть из которых

находилась в состоянии экстрюзии (рис. 75). Некоторые реснитчатые клетки имели

светлую цитоплазму и крупное ядро (рис. 76). В их апикальной части выявлялись

многочисленные мелкие митохондрии и умеренное количество вакуолей (рис. 77).

Некоторые клетки в краниальном отделе трахеи находились в состоянии

подготовки к митотическому делению. Количество бокаловидных клеток в эпителии значимо не изменялось по сравнению с экспериментальным контролем (табл. 8).

В большинстве случаев гранулы секрета располагались в апикальной части клеток, причем количество гранул в них варьировало (рис. 78). В краниальном отделе трахеи увеличивалось число бокаловидных клеток, секретирующих гликозаминогликаны, по сравнению с ШИК – позитивными клетками. В каудальном отделе бокаловидные клетки содержали небольшое количество секрета, которое располагалось в апикальной части, число гранул в клетках варьировало (рис. 79). Базальные клетки каудального отдела имели типичный план строения, в них хорошо заметно ядрышко. В слизистой оболочке внутридолевого бронха возрастала складчатость, в эпителии присутствовали реснитчатые клетки со светлой цитоплазмой (рис. 80). Реснитчатый слой равномерный, содержал большое количество секрета, в основном за счет продукции ШИК – позитивных веществ (рис. 81). Бокаловидные клетки обычно небольшого размера, в части из них сохранялись только следы секрета. Слизистая мембранозного бронха имела многочисленные сосочковые выросты. В просвете бронха наблюдается скопление секрета, в котором выявлялись крупные клетки. В составе эпителиа увеличивается количество реснитчатых клеток (рис. 82).

99

Рисунок 72. Электронограмма эпителиа слизистой оболочки трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – ядро реснитчатой клетки; 2 – каналцы эндоплазматической сети; 3 – вакуоли; 4 – инвагинация ядра. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 25000.

Рисунок 73. Слизистая трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – светлая реснитчатая клетка; 6 – экструзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

100

Рисунок 74. Электронограмма эпителиа слизистой оболочки трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – ядро; 2 – ядрышко; 3 – хроматин; 4 – митохондрии. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 25000.

Рисунок 75. Электронограмма эпителиа слизистой оболочки трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – бокаловидная клетка; 2 – реснички; 3 – ядро вставочной клетки; 4 – реснитчатая клетка; 5 – ядро реснитчатой клетки. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 25000.

101

Рисунок 76. Слизистая трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Каудальный отдел. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – светлая реснитчатая клетка; 6 – экструзия эпителиоцита; 7 – кровеносный сосуд. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 38 1000.

Рисунок 77. Электронограмма эпителиа слизистой оболочки трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – реснички; 2 – митохондрии; 3 – вакуоли. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 12000.

102

Рисунок 78. Слизистая трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем

охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидная клетка; (1) – реснитчатый слой. Окраска ШИК-реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

Рисунок 79. Слизистая трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Кaudальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; (1) – бокаловидные клетки. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

103

Рисунок 80. Стенка внутридолевого бронха крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (1) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро вставочной клетки. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 81. Стенка внутридолевого бронха крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – складка слизистой; (1) – бокаловидные клетки. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400.

104

Рисунок 82. Стенка мембранозного бронха крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – мышечная пластинка; 4 – секрет в просвете бронха; (1) – макрофаги. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу с докраской ядер гематоксилином. Увеличение 400.

Рисунок 83. Стенка бронхиолы крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – кровеносный сосуд; (1) – базальная мембрана. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

105

Рисунок 84. Электрограмма эпителия терминальной бронхиолы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. 1 – клетка Клара; 2 – ядро клетки Клара; 3 – инвагинация ядра; 4 – гранулы секрета. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 15000.

Для эпителия терминальной бронхиолы были характерны немногочисленные клетки Клара и реснитчатые клетки, последние имели различный размер и неравномерно расположенные реснички (рис. 83). Клетки Клара сохраняли контакт с эпителиальным пластом, их цитоплазма светлая, в ней содержалось небольшое количество гранул (рис. 84). Площадь клетки Клара увеличивалась до $75,5 \pm 4,03$ мкм² (экспериментальный контроль – $60,1 \pm 3,42$ мкм²; $p < 0,01$), площадь ядра до $23,4 \pm 1,1$ мкм² (экспериментальный контроль – $18,5 \pm 1,2$ мкм²; $p < 0,05$) (табл. 8).

При оценке морфометрических показателей эпителиального пласта и клеток слизистой трахеи и терминальной бронхиолы у старых животных (возраст 19 – 20 недель) на фоне введения арабиногалактана при общем охлаждении организма не было выявлено значимых изменений в высоте эпителия и ресничек по сравнению с группой экспериментального контроля (табл. 9).

106

Таблица 9 – Морфометрические показатели клеток слизистой трахеи и терминальной бронхиолы животных в возрасте 19 – 20 месяцев при применении арабиногалактана и общем охлаждении организма, $M \pm SD$

Группы животных

Показатели

Краниальный отдел Кaudальный отдел

Охлаждение Охлаждение

и арабино-

галактан

Охлаждение Охлаждение

и арабино-

галактан

Высота эпителия, мкм $33,1 \pm 0,51$ $31,7 \pm 0,7$ $30,1 \pm 1,04$ $30,2 \pm 0,82$

Высота ресничек, мкм $5,2 \pm 0,26$ $5,0 \pm 0,05$ $4,0 \pm 0,27$ $4,1 \pm 0,08$

БК, % $10,7 \pm 0,6$ $10,8 \pm 0,5$ $10,1 \pm 0,4$ $12,4 \pm 0,3^*$

Площадь КБ, мкм² $22,7 \pm 0,3$ $27,1 \pm 0,3^{**}$ $25,1 \pm 0,21$ $26,4 \pm 0,46$

Площадь ядра БК, мкм² $12,1 \pm 0,18$ $19,1 \pm 0,4^{**}$ $10,7 \pm 0,14$ $14,3 \pm 0,18^*$

ЭЭК, ‰ $7,4 \pm 0,3$ $4,5 \pm 0,28^{**}$ $5,8 \pm 0,4$ $4,2 \pm 0,33^*$

ЭЭК с неизмененными

ядрами, ‰

$3,1 \pm 0,29$ $3,4 \pm 0,2$ $2,6 \pm 0,35$ $2,4 \pm 0,11^*$

ПК, % $9,8 \pm 0,4$ $10,1 \pm 0,2$ $10,7 \pm 0,35$ $12,1 \pm 0,17^*$

БоК, % $27,2 \pm 0,41$ $22,1 \pm 0,35^*$ $26,9 \pm 0,24$ $23,8 \pm 0,42^*$

РК, % $47,1 \pm 0,74$ $46,8 \pm 0,81$ $43,9 \pm 0,65$ $48,4 \pm 0,55^{**}$

ТК на 100 мкм длины

эпителия

$3,1 \pm 0,07$ $2,2 \pm 0,09^*$ $2,8 \pm 0,09$ $1,9 \pm 0,14^*$

Терминальная бронхиола

Показатели Охлаждение Охлаждение и

арабиногалактан

Число РК на 100 мкм пласта эпителия $18,4 \pm 1,2$ $19,0 \pm 0,75$

Число КК на 100 мкм пласта эпителия $9,8 \pm 0,6$ $7,8 \pm 0,5^*$

Площадь КК, мкм² $57,2 \pm 2,2$ $76,7 \pm 2,05^{**}$

Площадь ядра КК, мкм² $19,4 \pm 2,1$ $23,9 \pm 0,95^*$

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении группы

животных при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма с группой

животных при общем охлаждении организма.

Уровень экстрезии эпителиальных клеток в краниальном отделе был снижен

до $4,5 \pm 0,28$ ‰ (экспериментальный контроль – $7,4 \pm 0,3$ ‰; $p < 0,01$) и в

каудальном отделе трахеи – до $4,2 \pm 0,33$ ‰ (экспериментальный контроль – $5,8 \pm$

$0,4$ ‰; $p < 0,05$) (табл. 9, рис. 85). Большинство из этих клеток имели неизмененные

ядра, похожие по структуре на ядра промежуточных клеток (рис. 86). Уровень

экстрезии эпителиальных клеток с неизмененными ядрами в каудальном отделе

трахеи снижился до $2,4 \pm 0,11$ ‰ (экспериментальный контроль – $2,6 \pm 0,35$ ‰;

$p < 0,05$) (табл. 9).

107

Реснитчатые клетки в основном имели типичный план строения. Однако

выявлялись элементы, имеющие отличия, а именно: одни клетки были с

электронно-плотной цитоплазмой и хорошо развитыми органоидами, другие

имели электронно-светлую цитоплазму и небольшое число органоидов. Ядра

реснитчатых клеток характеризовались наличием многочисленных инвагинаций,

хроматин располагался в виде очаговых скоплений под ядерной оболочкой (рис.

87). Межклеточные пространства очагово расширены, заполнены негомогенным

содержимым. Количество реснитчатых клеток в каудальном отделе трахеи

увеличивалось до $48,4 \pm 0,55$ % (экспериментальный контроль – $43,9 \pm 0,65$ %;

$p < 0,01$) (табл. 9). Уровень базальных клеток в каудальном отделе трахеи был

увеличен и составил $12,4 \pm 0,3$ % (экспериментальный контроль – $10,1 \pm 0,4$ %;

$p < 0,05$). Площадь базальной клетки увеличивалась в краниальном отделе трахеи

до $27,1 \pm 0,3$ мкм² (экспериментальный контроль – $22,7 \pm 0,3$ мкм²; $p < 0,01$),

площадь ядра в краниальном отделе – до $19,1 \pm 0,4$ мкм² (экспериментальный

контроль – $12,1 \pm 0,18$ мкм²; $p < 0,01$) и в каудальном отделе – до $14,3 \pm 0,18$ мкм²

(экспериментальный контроль – $10,7 \pm 0,14$ мкм²; $p < 0,05$). Число бокаловидных клеток снижалось как в краниальном отделе до $22,1 \pm 0,35$ % (экспериментальный контроль – $27,2 \pm 0,41$ %; $p < 0,05$), так и каудальном отделе трахеи до $23,8 \pm 0,42$ % (экспериментальный контроль – $26,9 \pm 0,24$ %; $p < 0,05$) (табл. 9). Большинство из них содержали ШИК – позитивные вещества, заполняющие преимущественно апикальную часть клетки (рис. 88). В реснитчатом покрытии количество нейтральных полисахаридов было умеренное. Количество тучных клеток снижалось как в краниальном отделе до $2,2 \pm 0,09$ (экспериментальный контроль – $3,1 \pm 0,07$; $p < 0,05$), так и каудальном отделе трахеи до $1,9 \pm 0,14$ (экспериментальный контроль – $2,8 \pm 0,09$; $p < 0,05$) (табл. 9). Они имели крупный размер и многочисленные гранулы в цитоплазме (рис. 89).

108

Рисунок 85. Слизистая трахеи крыс при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – тучная клетка; 6 – экстрюзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 86. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – цитоплазма светлого эпителиоцита; 4 – митохондрии; 5 – базальная мембрана. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 12000.

109

Рисунок 87. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – ядро реснитчатой клетки; 3 – межклеточные контакты. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 12000.

Рисунок 88. Слизистая трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Краниальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидная клетка; (↓) – реснитчатый слой. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 400. **4**

110

Рис. **4**. 89. Слизистая трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Каудальный отдел. 1 – эпителий многоярный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – ядро реснитчатой клетки; 4 – ядро базальной клетки; 5 – экстрюзия эпителиоцита. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1000.

Рисунок 90. Слизистая трахеи крысы при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Каудальный отдел. 1 – эпителий; 2 – собственная пластинка слизистой; 3 – бокаловидные клетки; (↓) – реснитчатый слой; 4 – базальная мембрана. Окраска ШИК – реакция по Мак-Манусу. Увеличение 600.

111

В собственной пластинке слизистой местами выявлялись уплотнения в виде скоплений волокон с высоким содержанием ШИК – положительных веществ (рис. 90). Уровень миграции тучных клеток в эпителии невелик, но большинство из них содержали большое число крупных электронно-плотных гранул (рис. 91). Стенка внутридолевого бронха имела многочисленные складки, в составе эпителия в основном присутствовали реснитчатые клетки, имеющие светлую цитоплазму. Ядра эпителия чаще были прижаты к базальному полюсу, в их апикальной части выявлялась ярко-оксифильная окраска. Отмечались зоны экстрюзии промежуточных клеток в эпителии. Инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки лимфоцитами носила очаговый характер. Для

соединительной ткани было характерно некоторое увеличение числа волокон (рис. 92). Бокаловидные клетки располагаются неравномерно, и большинство из них содержат ШИК-позитивные вещества. Эпителий мембранозного бронха двурядный, имел типичный план строения и практически все клетки сохраняли контакт с базальной мембраной. В терминальной бронхиоле выявлялось снижение количества клеток Клара до $7,8 \pm 0,5$ (экспериментальный контроль – $9,8 \pm 0,6$; $p < 0,05$), которые располагались группами и имели площадь $76,7 \pm 2,05$ мкм² (экспериментальный контроль – $57,2 \pm 2,2$ мкм²; $p < 0,01$). Площадь ядра КК увеличивалась до $23,9 \pm 0,95$ мкм² (экспериментальный контроль – $19,4 \pm 2,1$ мкм²; $p < 0,05$) (табл. 9, рис. 93).

Следовательно, введение арабиногалактана молодым животным на фоне общего охлаждения, как в краниальном, так и в каудальном отделе трахеи позволяет сохранить в большинстве реснитчатых клеток типичный план строения. При этом умеренно возрастает число промежуточных клеток. В составе эпителия снижается количество тучных клеток и уровень экстрюзии эпителиоцитов. Умеренно возрастает уровень митотической активности, о чем свидетельствует увеличение площади базальной клетки и ее ядра. В терминальной бронхиоле отмечены аналогичные показатели клеток Клара, т.е. рост размера и площади их ядра.

112

Рисунок 91. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при применении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – реснитчатая клетка; 2 – ядро реснитчатой клетки; 3 – гранулы тучной клетки; 4 – ядро промежуточной клетки в состоянии экстрюзии. Заливка в аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 10000.

Рисунок 92. Стенка внутридолевого бронха крысы при применении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – эпителий многорядный реснитчатый; 2 – собственная пластинка; (↓) – реснитчатый слой; 3 – мышечная пластинка; 4 – мигрирующие клетки соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

113

Рисунок 93. Терминальная бронхиола крысы при применении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – ядра реснитчатых клеток; 2 – клетки Клара; 3 – рыхлая соединительная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400.

У животных в возрасте 19-20 месяцев при введении арабиногалактана в составе эпителия присутствуют различного типа реснитчатые клетки, имеющие светлую и темную цитоплазму. Снижается секреторная активность бокаловидных клеток за счет уменьшения их числа, при этом большинство из них секретирует ШИК – позитивные продукты. Возрастает уровень регенерационной активности в базальных клетках, особенно краниального отдела трахеи. В эпителии внутридолевых бронхов выявляется элиминация промежуточных клеток. Число реснитчатых клеток и клеток Клара снижается. Площадь клеток Клара и их ядер увеличивается.

3.5. Регенерационная активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей интактных и экспериментальных крыс разных возрастных групп
При оценке регенерационной активности эпителиального пласта был использован электронно-гистохимический маркер – щелочная фосфомоноэстераза, интенсивность реакции которой отражает функциональную

114

активность клеток, определяющую характер обменных процессов между эпителиоцитами и рыхлой соединительной тканью, а также состояние процессов пролиферации и дифференцировки клеточных элементов. В эпителии слизистой дыхательных путей у интактных животных в зависимости от возраста

распределение продуктов реакции на щелочную фосфомоноэстеразу имело не однозначный характер. В группе молодых интактных животных выявлялось интенсивное равномерное распределение продуктов реакции в виде мелких гранул, преимущественно в клеточных оболочках базальных клеток, четко контурирующих их границы, а также в базальной мембране (рис. 94). В группе старых интактных животных продукты реакции на щелочную фосфомоноэстеразу распределялись в виде мелких гранул, в ряде случаев они имеют очаговую локализацию, неравномерно контурируют границы базальных клеток (рис. 95), что свидетельствовало о более низкой функциональной активности клеток. Охлаждение организма животных вызывало более выраженное изменение распределения продуктов реакции на щелочную фосфомоноэстеразу в клеточных элементах эпителиального пласта, что свидетельствовало о задержке регенерации эпителиоцитов слизистой оболочки дыхательных путей в зависимости от возраста. У молодых животных общее охлаждение организма способствовало снижению реакции, которая проявлялась в виде неравномерного распределения мелких гранул реакции на фермент в мембране базальной клетки. Одновременно в базальной мембране появлялись признаки деполимеризации основного вещества и отека (рис. 96). В группе старых животных выявлялась реакция в мембранах базальных и частично в ряде промежуточных клеток с неравномерным распределением гранул фермента по поверхности оболочки клеток. В базальной мембране гранулы фермента выявлялись в большом количестве, но также имели очаговую локализацию (рис. 97).

При введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма молодых экспериментальных животных в мембране базальных клеток 38 эпителиального пласта значительно увеличивалось количество продуктов реакции на щелочную фосфомоноэстеразу 38. Гранулы реакции располагались плотно, четко контурируя

115

границы клеток. Выявлялись базальные клетки в состоянии митоза. Камбиальные клетки маркировались в виде мелких гранул, образующих черные полосы в апикальной и базальной части клеток, что свидетельствовало об усилении регенерации эпителия за счет активации малодифференцированных клеток, число которых увеличивалось. На базальной мембране продукты реакции выявлялись в виде небольшого числа мелких гранул, расположенных широкой полосой (рис. 38). В группе старых экспериментальных животных также увеличивалось количество продуктов реакции на фермент в мембране базальных клеток и базальной мембране эпителиального пласта, но менее выражено, чем в группе молодых экспериментальных животных (рис. 99).

Рисунок 94. Электронограмма базального участка эпителия трахеи интактной крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу: 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – базальная мембрана; 4 – гранулы сульфида свинца в мембране клетки 1. Реакция по Мауаһага с соавт. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 25000.

116

Рисунок 95. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи интактной крысы. Возраст 19 – 20 месяцев. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу: 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – базальная мембрана; (↓) – гранулы сульфида свинца в мембране клетки 1. Реакция по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска уранилацетатом, цитратом свинца. Увеличение 10000.

Рисунок 96. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы. Возраст 6 – 7 месяцев. Краниальный отдел. Охлаждение в течение 14 дней. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу: 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – базальная мембрана; (↓) – гранулы сульфида свинца в мембране клетки 1. Реакция по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска

урилиацетатом, цитратом свинца. Увеличение 15000.

117

Рисунок 97. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при общем охлаждении организма **1**. Возраст 19 – 20 месяцев. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу: 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – базальная мембрана; (↓) – гранулы сульфида свинца в мембране клетки **1**. Реакция по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска урилиацетатом, цитратом свинца. Увеличение 5500.

Рисунок 98. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы при применении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу: 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – базальная клетка в состоянии митоза; 4 – базальная мембрана; (↓) – гранулы сульфида свинца в мембране клетки. Реакция по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска урилиацетатом, цитратом свинца. Увеличение 15000. **1**

118

Рис. 99. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы **1** при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу: 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – базальная мембрана; 4 – цитоплазма реснитчатой клетки; (↓) – гранулы сульфида свинца в мембране клетки. Реакция по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска урилиацетатом, цитратом свинца. Увеличение 12000.

Рис. 100. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы **1** при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 6 – 7 месяцев. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу: 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – ядрышко базальной клетки; 4 – базальная мембрана; (↓) – гранулы сульфида свинца в мембране клетки **1**. Реакция по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска урилиацетатом, цитратом свинца. Увеличение **1**

119

15000. Рис. 101. Электронограмма эпителия слизистой оболочки трахеи крысы **1** при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма. Возраст 19 – 20 месяцев. 1 – базальная клетка; 2 – ядро базальной клетки; 3 – базальная мембрана; 4 – базальная клетка в состоянии митоза; (↓) – гранулы сульфида свинца в мембране клетки. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу по Мауаһага с соавт. Заливка аралдит, эпон. Окраска урилиацетатом, цитратом свинца. Увеличение 10000.

При введении арабиногалактана и общем охлаждении организма молодых экспериментальных животных местами определялось увеличение продуктов реакций на щелочную фосфомоноэстеразу в клеточных оболочках. Границы клеток маркировались мелкими гранулами. Базальная мембрана местами имела расширения, в которых наблюдалось увеличение числа гранул реакции (рис. 100). В группе старых экспериментальных животных продукты реакции на щелочную фосфомоноэстеразу выявлялись в виде крупных гранул, имеющих «сливной» характер в оболочках базальных клеток (рис. 101).

Таким образом, реакция на щелочную фосфомоноэстеразу наиболее активно в мембранах базальных клеток **8** у интактных животных в возрасте 6-7 месяцев.

При действии общего охлаждения уровень реакции на фермент наиболее значительно снижается в мембранах базальных клеток у животных в возрасте 19-20 месяцев, что указывает на более низкий уровень регенерационной активности. Введение

120

дигидрохверцетина по сравнению с арабиногалактаном на фоне общего охлаждения организма, как молодых, так и старых животных приводит к увеличению активности щелочной фосфомоноэстеразы, что указывает на

усиление обменных процессов, осуществляемых между клетками эпителия и базальной мембраной, способствующих повышению регенерационного потенциала эпителиального слоя слизистой оболочки дыхательных путей.

3.6. Состояние основных показателей системы ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легкого у разновозрастных животных при введении природных антиоксидантов и общем охлаждении

При анализе состояния системы ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легкого у разновозрастных интактных и экспериментальных животных были выявлены следующие закономерности, которые представлены в таблицах 10-13.

Охлаждение организма молодых животных (экспериментальный контроль) сопровождалось увеличением в периферической крови показателей гидроперекисей липидов до $35,62 \pm 1,31$ нмоль/мл (интактные – $31,15 \pm 0,58$ нмоль/мл; $p < 0,01$), диеновых конъюгатов – до $42,13 \pm 0,46$ нмоль/мл (интактные – $37,17 \pm 1,28$ нмоль/мл; $p < 0,01$) и малонового диальдегида – до $5,13 \pm 0,22$ нмоль/мл (интактные – $4,13 \pm 0,23$ нмоль/мл; $p < 0,01$) (табл. 10). Содержание α -токоферола и церулоплазмينا в периферической крови молодых

экспериментальных животных соответственно снижалось до $38,07 \pm 0,89$ нмоль/л и $19,05 \pm 0,75$ мг/100мл (интактные – $42,03 \pm 1,97$ нмоль/л ($p < 0,05$) и $23,77 \pm 1,36$ мг/100мл ($p < 0,01$)) (табл. 11). В тканях легкого у молодых животных данной группы показатели гидроперекисей липидов увеличивались до $45,68 \pm 1,25$ нмоль/г (интактные – $36,12 \pm 1,11$ нмоль/г; $p < 0,01$), диеновых конъюгатов – до $52,57 \pm 1,82$ нмоль/г (интактные – $43,82 \pm 1,3$ нмоль/г; $p < 0,01$) и α -токоферола – до $43,52 \pm 1,18$ нмоль/г (интактные – $58,95 \pm 1,93$ нмоль/г ($p < 0,05$)) (табл. 10, 11).

При введении дигидрокверцетина и общем охлаждении организма молодых животных снижение в периферической крови показателей гидроперекисей

липидов происходило до $29,7 \pm 0,89$ нмоль/мл ($p < 0,01$) диеновых конъюгатов – до $34,87 \pm 1,82$ нмоль/л ($p < 0,01$) и малонового диальдегида – до $4,32 \pm 0,12$ нмоль/мл ($p < 0,01$) по сравнению с экспериментальным контролем. Содержание

α -токоферола и церулоплазмينا в периферической крови таких животных достоверно увеличивалась до $40,75 \pm 0,94$ нмоль/мл ($p < 0,05$) и $27,04 \pm 2,12$ мг/100мл ($p < 0,05$), соответственно (табл. 10). В тканях легкого в данной подгруппе молодых животных отмечалось снижение показателей гидроперекисей липидов до $35,23 \pm 1,71$ нмоль/г ($p < 0,01$), диеновых конъюгатов – до $38,72 \pm 1,36$ нмоль/г ($p < 0,01$) при увеличении содержания α -токоферола до $50,07 \pm 1,18$ нмоль/г ($p < 0,01$) относительно экспериментального контроля (табл. 10, 11).

Таблица 10 – Показатели системы ПОЛ в периферической крови (нмоль/мл) и тканях легкого (нмоль/г) у животных в возрасте 6 – 7 месяцев, $M \pm SD$

Показатели

Группы животных

Гидроперекис

и липидов

Диеновые

конъюгаты

Малоновый

диальдегид

Интактные Кровь $31,15 \pm 0,58$ $37,17 \pm 1,18$ $4,13 \pm 0,23$

Ткань легкого $36,12 \pm 1,11$ $43,82 \pm 1,30$ -

Охлаждение Кровь $35,62 \pm 1,31^{**}$ $42,13 \pm 0,46^{**}$ $5,13 \pm 0,22^{**}$

Ткань легкого $45,68 \pm 1,25^{**}$ $52,57 \pm 1,82^{**}$ -

Охлаждение и

введение

арабиногалактана

Кровь $30,32 \pm 1,61^{\wedge}$ $38,88 \pm 1,48^{\wedge}$ $4,36 \pm 0,4^{\wedge}$

Ткань легкого $40,12 \pm 1,66^{\wedge}$ $43,08 \pm 1,72$ -

Охлаждение и

введение

дигидрохверцетина

Кровь $29,72 \pm 0,89$ до $34,87 \pm 1,82$ до $4,32 \pm 0,12$ до

Ткань легкого $35,23 \pm 1,71$ до $38,72 \pm 1,36$ до -

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы

интактных животных и при общем охлаждении организма; $\wedge p < 0,05$, $\wedge\wedge p < 0,01$ – значимость

различий при сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при

охлаждении и введении арабиногалактана; $o p < 0,05$, $o o p < 0,01$ – значимость различий при

сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при охлаждении и

введении дигидрохверцетина.

122

Таблица 11 – Показатели АОЗ в периферической крови и тканях легкого у

животных в возрасте 6 – 7 месяцев, $M \pm SD$

Показатели

Группы животных

α -токоферол,

нмоль/мл

нмоль/г

Церулоплазмин,

мг/100мл

Интактные Кровь $42,03 \pm 1,97$ до $23,77 \pm 1,36$

Ткань легкого $58,95 \pm 1,93$ -

Охлаждение Кровь $38,07 \pm 0,89$ * $19,05 \pm 0,75$ **

Ткань легкого $43,52 \pm 1,18$ ** -

Охлаждение

и введение

арабиногалактана

Кровь $39,47 \pm 1,25$ до $22,46 \pm 1,04$ \wedge

Ткань легкого $45,11 \pm 1,59$ -

Охлаждение

и введение

дигидрохверцетина

Кровь $42,75 \pm 0,94$ до $27,04 \pm 2,12$ до

Ткань легкого $50,07 \pm 1,18$ до -

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы

интактных животных и при общем охлаждении организма; $\wedge p < 0,05$, $\wedge\wedge p < 0,01$ – значимость

различий при сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при

охлаждении и введении арабиногалактана; $o p < 0,05$, $o o p < 0,01$ – значимость различий при

сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при охлаждении и

введении дигидрохверцетина.

При введении арабиногалактана и общем охлаждении организма молодых

животных отмечалось статистически значимое снижение в периферической крови

показателей гидроперекисей липидов до $30,32 \pm 1,61$ нмоль/мл **73** ($p < 0,01$), диеновых

конъюгатов – до $38,88 \pm 1,48$ нмоль/мл ($p < 0,05$) и малонового диальдегида – до

$4,36 \pm 0,4$ нмоль/мл **4** ($p < 0,05$) по сравнению с экспериментальным контролем. При

оценке содержания церулоплазмينا в периферической крови было выявлено его

увеличение до $22,46 \pm 1,04$ мг/100мл ($p < 0,05$), при этом показатели α -токоферола

статистически значимо не отличались относительно экспериментального контроля

(табл. 10). В тканях легкого в данной группе животных выявлялось снижение

показателей гидроперекисей липидов до $40,12 \pm 1,66$ нмоль/г ($p < 0,05$), тогда как

показатели диеновых конъюгатов и α -токоферола статистически значимо не

отличались от экспериментального контроля (табл. 10, 11).

В подгруппе старых животных, в возрасте 19 – 20 месяцев, на фоне общего

охлаждения организма при сравнении показателей ПОЛ установлено увеличение

ТБК-активных продуктов в периферической крови до $6,38 \pm 0,4$ нмоль/мл (интактные – $4,27 \pm 0,54$ нмоль/мл; $p < 0,01$), диеновых конъюгатов – до $45,73 \pm 1,49$ нмоль/мл (интактные – $34,1 \pm 1,6$ нмоль/мл; $p < 0,01$) и гидроперекисей липидов – до $38,3 \pm 1,32$ нмоль/мл (интактные – $27,27 \pm 1,37$ нмоль/мл; $p < 0,01$) (табл. 12). Уровень антиокислительной активности периферической крови у животных данной подгруппы был снижен, о чем свидетельствовало уменьшение показателей α -токоферола до $36,05 \pm 1,44$ нмоль/мл (интактные – $40,87 \pm 0,33$ нмоль/мл; $p < 0,05$) и церулоплазмينا – до $19,47 \pm 1,14$ мг/100мл (интактные – $22,87 \pm 0,52$ мг/100мл; $p < 0,05$) (табл. 13). В ткани легкого увеличение показателей диеновых конъюгатов происходило до $60,47 \pm 1,45$ нмоль/г (интактные – $45,62 \pm 1,48$ нмоль/г; $p < 0,01$) и гидроперекисей липидов – до $44,6 \pm 1,49$ нмоль/г (интактные – $39,05 \pm 1,56$ нмоль/г; $p < 0,05$) (табл. 12). Содержание α -токоферола в ткани легкого снижалось до $42,25 \pm 1,89$ нмоль/г (интактные – $60,88 \pm 1,62$ нмоль/г; $p < 0,01$) (табл. 13).

При общем охлаждении организма старых животных и введении дигидрохверцетина показатели малонового диальдегида в периферической крови снижались до $4,35 \pm 0,48$ нмоль/мл ($p < 0,01$), диеновых конъюгатов – до $41,27 \pm 1,81$ нмоль/мл ($p < 0,05$) и гидроперекисей липидов – до $31,91 \pm 1,93$ нмоль/мл ($p < 0,01$) относительно экспериментального контроля (табл. 12).

Содержание церулоплазмينا и α -токоферола в периферической крови таких животных достоверно увеличивалось до $23,06 \pm 1,01$ мг/100мл ($p < 0,05$) и до $41,51 \pm 0,84$ нмоль/мл ($p < 0,05$) соответственно (табл. 13). В ткани легкого в данной подгруппе старых животных выявлено снижение показателей диеновых конъюгатов до $52,16 \pm 1,67$ нмоль/г ($p < 0,01$), гидроперекисей липидов – до $40,61 \pm 1,78$ нмоль/г ($p < 0,05$) при увеличении содержания α -токоферола до $49,94 \pm 1,77$ нмоль/г ($p < 0,01$) относительно экспериментального контроля (табл. 12, 13).

У старых животных при общем охлаждении организма и введении арабиногалактана установлено значимое снижение показателей малонового диальдегида в периферической крови до $4,52 \pm 0,2$ нмоль/мл ($p < 0,01$), диеновых конъюгатов – до $38,29 \pm 1,13$ нмоль/мл ($p < 0,01$) и гидроперекисей липидов – до $30,69 \pm 0,79$ нмоль/мл ($p < 0,01$) относительно экспериментального контроля.

Таблица 12 – Показатели системы ПОЛ в периферической крови (нмоль/мл) и тканях легкого (нмоль/г) у животных в возрасте 19 – 20 месяцев, $M \pm SD$

Показатели

Группы животных

Диеновые

конъюгаты

Гидроперекис

и липидов

Малоновый

диальдегид

Интактные Кровь $34,1 \pm 1,6$ $27,27 \pm 1,37$ $4,27 \pm 0,54$

Ткань легкого $45,62 \pm 1,48$ $39,05 \pm 1,56$ -

Охлаждение Кровь $45,73 \pm 1,49^{**}$ $38,3 \pm 1,32^{**}$ $6,38 \pm 0,4^{**}$

Ткань легкого $60,47 \pm 1,45^{**}$ $44,6 \pm 1,49^*$ -

Охлаждение

и введение

арабиногалактана

Кровь $38,29 \pm 1,13^{\wedge\wedge}$ $30,69 \pm 0,79^{\wedge\wedge}$ $4,52 \pm 0,2^{\wedge\wedge}$

Ткань легкого $53,81 \pm 1,62^{\wedge}$ $42,01 \pm 1,60$ -

Охлаждение

и введение

дигидрохверцетина

Кровь 41,27 ± 1,81о 31,91 ± 1,93оо 4,35 ± 0,48оо

Ткань легкого 52,16 ± 1,67оо 40,61 ± 1,78о -

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы интактных животных и при общем охлаждении организма; $\wedge p < 0,05$, $\wedge\wedge p < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при охлаждении и введении арабиногалактана; $ор < 0,05$, $оор < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при охлаждении и введении дигидрохверцетина.

Таблица 13 – Показатели АОЗ в периферической крови и тканях легкого у животных в возрасте 19 – 20 месяцев, $M \pm SD$

Показатели

Группы животных

α -токоферол,

нмоль/мл

нмоль/г

Церулоплазмин,

мг/100мл

Интактные Кровь 40,87 ± 0,33 22,87 ± 0,52

Ткань легкого 60,88 ± 1,62 -

Охлаждение Кровь 36,05 ± 1,44* 19,47 ± 1,14*

Ткань легкого 42,25 ± 1,89** -

Охлаждение

и введение

арабиногалактана

Кровь 39,92 ± 1,36 19,51 ± 1,03

Ткань легкого 43,77 ± 1,71 -

Охлаждение

и введение

дигидрохверцетина

Кровь 41,51 ± 0,84о 23,06 ± 1,01о

Ткань легкого 49,94 ± 1,77о -

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы интактных животных и при общем охлаждении организма; $\wedge p < 0,05$, $\wedge\wedge p < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при

125

охлаждении и введении арабиногалактана; $ор < 0,05$, $оор < 0,01$ – значимость различий при сравнении данных группы при общем охлаждении организма животных и при охлаждении и введении дигидрохверцетина.

Анализ содержания церулоплазмينا и α -токоферола в периферической крови старых животных в данной подгруппе показал отсутствие значимого изменения показателей относительно экспериментального контроля (табл. 13). В ткани легкого отмечалось уменьшение показателей диеновых конъюгатов 53,81 ± 1,62 нмоль/г ($p < 0,05$). Значимых изменений в показателях гидроперекисей липидов и α -токоферола в тканях легкого относительно экспериментального контроля установлено не было (табл. 12, 13).

Таким образом, введение арабиногалактана молодым животным при общем охлаждении организма характеризуется снижением в периферической крови уровня исследуемых продуктов ПОЛ при увеличении содержания церулоплазмينا; для ткани легкого характерно уменьшение образования гидроперекисей липидов. У старых животных введение арабиногалактана вызывает снижение активности ПОЛ в периферической крови; в ткани легкого – на этапе образования диеновых конъюгатов.

Введение дигидрохверцетина молодым и старым животным при общем охлаждении организма вызывает уменьшение образования исследуемых продуктов ПОЛ в периферической крови при повышении ее антиокислительной

активности; в тканях легкого снижаются показатели окисленных предшественников и увеличивается содержание α -токоферола. Следовательно, дигидрокверцетин по сравнению с арабиногалактаном имеет более значимый антиокислительный эффект, который выражается в снижении активности ПОЛ, как в периферической крови, так и в ткани легкого.

126

3.7. Корреляционные связи показателей перекисного окисления

липидов, клеточного состава эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при введении природных антиоксидантов и охлаждении организма животных разных возрастных групп

Для изучения взаимоотношений между системой ПОЛ-АОЗ в периферической крови **2** и тканях легкого, а также клеточным составом эпителиального пласта слизистой **2** трахеи дыхательных путей животных в разных возрастных группах в эксперименте применяли метод корреляционного анализа, учитывали число, направленность и силовые характеристики связей **2** (табл. 14, 15).

Сравнительный анализ показал усложнение межсистемных взаимодействий между исследуемыми показателями клеточного состава эпителиального пласта слизистой трахеи дыхательных путей и системы ПОЛ-АОЗ в периферической крови в группе молодых **2** экспериментальных животных, которым вводили дигидрокверцетин на фоне общего охлаждения организма: увеличение числа (на 22,2%) и силы (на 18,6 %) межсистемных взаимосвязей по сравнению с экспериментальным контролем, что, по-видимому, связано с компенсацией окислительных процессов экзогенно вводимым антиоксидантом, усиливающим антиокислительную активность периферической крови и как следствие регенерационный потенциал эпителиальных клеток дыхательных путей за счет увеличения пула малодифференцированных клеток **2** (табл. 14). Количество связей – 9, из них сильных обратных связей 4 между **2** малоновым диальдегидом и

площадью базальной клетки **2** ($r = -0,80, p < 0,001$), диеновыми конъюгатами и числом клеток Клара **2** ($r = -0,76, p < 0,001$), диеновыми конъюгатами и площадью базальной клетки **2** ($r = -0,74, p < 0,001$), диеновыми конъюгатами и числом базальных клеток **2** ($r = -0,73, p < 0,001$), выявлены прямые связи между α -токоферолом и площадью ядра клетки Клара **2** ($r = 0,75, p < 0,001$), α -

127

числом клеток Клара **2** ($r = 0,70, p < 0,001$) (табл. 14). Умеренная обратная зависимость установлена в 3 парах, между диеновыми конъюгатами и площадью ядра клетки Клара **2** ($r = -0,63, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и площадью **2** клетки Клара ($r = -0,61, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и площадью ядра базальной клетки **2** ($r = -0,56, p < 0,01$). При анализе внутрисистемных взаимодействий в группе молодых экспериментальных животных выявлено увеличение количества обратных связей между морфометрическими параметрами клеток слизистой оболочки дыхательных путей (увеличение числа (на 66,7 %) и силы (на 32,9 %) внутрисистемных взаимосвязей) по сравнению с экспериментальной группой.

Сильная обратная связь – одна, между тучными клетками и площадью ядра базальной клетки **2** ($r = -0,80, p < 0,001$). Умеренная обратная зависимость установлена в 2 парах, между тучными клетками и числом базальных клеток **2** ($r = -0,67, p < 0,01$), тучными клетками и площадью базальной клетки **2** ($r = -0,64, p < 0,01$),

что свидетельствовало о выраженном регуляторном влиянии дигидрокверцетина на миграцию тучных клеток в эпителий дыхательных путей и регенерацию клеток базального слоя **2** (Рис. 102).

В группе молодых экспериментальных животных, которым вводили арабиногалактан на фоне общего охлаждения организма, изменений числа и силы межсистемных взаимосвязей по сравнению с экспериментальным контролем отмечено не было **2** (табл. 14). Количество пар с умеренной зависимостью – 5, из

них одна с прямой связью между α -токоферолом и площадью базальной клетки **2**

($r = 0,64, p < 0,01$) и 4 с обратной связью между диеновыми конъюгатами и

площадью ядра базальной клетки **2** ($r = -0,61, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и

площадью базальной клетки ($r = -0,53, p < 0,01$), малоновым диальдегидом и

площадью базальной клетки ($r = -0,51, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и

числом базальных клеток ($r = -0,50, p < 0,01$). Число внутрисистемных

взаимодействий по сравнению с экспериментальным контролем не изменялось, а

сила связи увеличилась на 24,2 %. Была установлена умеренная обратная

зависимость между тучными клетками и площадью ядра базальной клетки **2** ($r = -$

0,62, $p < 0,01$), что свидетельствовало о менее значимом регуляторном влиянии **2**

128

арабиногалактана на регенерационный потенциал эпителия слизистой оболочки

дыхательных путей молодых экспериментальных животных **2** (Рис. 103).

Таблица 14 – Характеристика корреляционных связей между системой ПОЛ-АОЗ

в периферической крови и клеточным составом **2** эпителия слизистой оболочки

дыхательных путей экспериментальных животных разных возрастных групп

Возраст 6 – 7 месяцев 19 – 20 месяцев

Вид эксперимента I II III IV I II III IV

Межсистемные корреляционные связи

ДК – число БК - -0,47 -0,74 -0,50 -0,40 - - -

ДК – площадь БК - -0,74 -0,74 -0,53 - - -0,54 0,43

ДК – площадь ядра БК - -0,56 -0,61 - 0,5 -0,58 -

ДК – число КК - -0,76 - 0,58 0,64 - -

ДК – площадь КК - -0,49 -0,61 - -0,71 -0,40 - -0,64

ДК – площадь ядра КК - -0,43 -0,63 - - -0,54 -

МДА – число БК - - - - - -0,40 -

МДА – площадь БК 0,72 -0,41 -0,80 -0,51 0,43 - -0,54 -

МДА – площадь ядра БК - - - - -0,54 - 0,41

α токоферол – число БК - - - - - 0,66 - 0,54

α токоферол – площадь БК - - - 0,64 - - - -

α токоферол – площадь ядра БК 0,80 - - - - -

α токоферол – число КК 0,78 - 0,70 - - 0,51 0,60 -

α токоферол – площадь КК 0,45 0,72 - - 0,40 0,65 0,74 0,66

α токоферол – площадь ядра КК 0,40 0,70 0,75 - - - -

Внутрисистемные корреляционные связи

ТК – число БК -0,47 - -0,67 - - -0,44 - -0,47

ТК – площадь БК -0,56 - -0,64 - - -0,77 -

ТК – площадь ядра БК - -0,47 -0,80 -0,62 -0,62 - -0,72 -

Общее число межсистемных

связей 5 7 9 5 5 7 7 5

Число прямых связей 3 2 2 1 2 4 1 3

Число обратных связей 2 5 7 4 3 3 6 2

Сила связей 0,63 0,57 0,70 0,56 0,50 0,56 0,56 0,53

Общее число внутрисистемных

связей 2 1 3 1 1 1 2 1

Число прямых связей 1 1 - - - - -

Число обратных связей 1 - 3 1 1 1 2 1

Сила связей 0,51 0,47 0,70 0,62 0,62 0,44 0,75 0,47

Примечание: I – интактные животные; II – при общем охлаждении организма животных; III –

при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма; IV – при введении

арабиногалактана и общем охлаждении организма.

Сравнительный корреляционный анализ, проведенный в группе старых **2**

129

экспериментальных животных при введении дигидрохверцетина **2** и общем

охлаждении организма, показал, что общее число межсистемных связей не

изменилось по сравнению с экспериментальным контролем и составило 7 пар (2) (табл. 14). Сила связей осталась прежней. Из установленных зависимостей одна с сильной обратной связью между α -токоферолом и площадью клетки Клара (2) ($r = -0,74, p < 0,001$). Умеренная зависимость установлена в 6 парах, прямая связь между α -токоферолом и числом клеток Клара (2) ($r = 0,60, p < 0,01$), обратные связи между диеновыми конъюгатами и площадью ядра базальной клетки (2) ($r = -0,58, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и площадью ядра клетки Клара ($r = -0,54, p < 0,01$), малоновым диальдегидом и площадью базальной клетки ($r = -0,54, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и площадью базальной клетки ($r = -0,54, p < 0,01$), малоновым диальдегидом и площадью клетки Клара ($r = -0,40, p < 0,01$).

Число внутрисистемных взаимодействий по сравнению с экспериментальным контролем увеличилось на 50 %, а сила связи – на 41,3%. Сильная обратная связь установлена между тучными клетками и площадью базальной клетки (2) ($r = -0,77, p < 0,001$), тучными клетками и площадью ядра базальной клетки (3) ($r = -0,72, p < 0,001$), что свидетельствовало о значимом влиянии дигидрохверцетина на регенерационный потенциал эпителия слизистой оболочки дыхательных путей в группе старых экспериментальных животных (2) (Рис. 104).

Корреляции, проведенные в группе старых животных при введении (2) АГ и общем охлаждении организма выявил, что общее число межсистемных связей снизилось на 28,6% по сравнению с экспериментальным контролем (2) и составил 5 пар. Сила связей незначительно уменьшилась (2) (Табл. 14). Умеренная прямая зависимость установлена в трех парах: α – токоферол – число базальных клеток (2) ($r = 0,54, p < 0,01$); диеновые конъюгаты – площадь базальной клетки (2) ($r = 0,43, p < 0,01$); малоновый диальдегид – площадь базальной клетки ($r = 0,41, p < 0,01$).

Обратные связи установлены между α – токоферолом и площадью клетки Клара (2) ($r = 0,66, p < 0,01$); диеновые конъюгаты – площадь клетки Клара (2) ($r = 0,64, p < 0,01$).

Число внутрисистемных связей и сила связей увеличилась незначительно.

Выявлена одна обратная связь между тучной клеткой и числом базальных клеток (2)

130

($r = 0,47, p < 0,01$), что указывает на низкое влияние арабиногалактана на регенерационный потенциал эпителия слизистой оболочки органов дыхания в группе старых животных (2) (Рис. 105).

Следует указать, что в группе молодых экспериментальных животных постоянно сохранялись корреляции: диеновые конъюгаты – число базальных клеток; диеновые конъюгаты – площадь базальной клетки (2); малоновый диальдегид – площадь базальной клетки; тучные клетки – площадь ядра базальной клетки. В группе старых экспериментальных животных: α – токоферол – площадь клетки Клара (2).

При сравнительном анализе взаимодействий между исследуемыми показателями клеточного состава эпителиального пласта слизистой (2) оболочки дыхательных путей и системы ПОЛ-АОЗ (2) в тканях легкого в группе молодых экспериментальных животных, которым вводили дигидрохверцетин на фоне общего охлаждения организма (2), выявлено увеличение числа связей на 50 % без изменения силы межсистемных взаимосвязей по сравнению с экспериментальным контролем (табл. 15). Количество связей – 6, из них одна сильная обратная связь между малоновым диальдегидом и площадью базальной клетки ($r = -0,88, p < 0,001$). Умеренная обратная зависимость установлена в двух парах между диеновыми конъюгатами и числом базальных клеток ($r = -0,50, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и площадью ядра базальной клетки ($r = -0,53, p < 0,01$). Прямых связей 3, между: малоновым диальдегидом и площадью ядра базальных клеток ($r = -0,56, p < 0,01$); α -токоферолом и площадью базальной клетки ($r = 0,62, p < 0,01$); α -токоферолом и площадью ядра базальной клетки ($r = 0,58, p < 0,01$).

При анализе внутрисистемных взаимодействий изменений числа связей между морфометрическими показателями клеток слизистой оболочки дыхательных путей по сравнению с экспериментальной группой выявлено не было.

Сила связи увеличивалась по сравнению с экспериментальным контролем на 50 %. Сильная обратная связь – одна, между тучными клетками и площадью ядра базальной клетки (2) ($r = -0,80, p < 0,001$), что свидетельствовало о значимом влиянии дигидрокверцетина на регенерационный потенциал (2) эпителиоцитов (Рис.

131

104).

В группе молодых экспериментальных животных, которым вводили арабиногалактан на фоне общего охлаждения организма (2), отмечалось снижение числа и силы межсистемных взаимосвязей по сравнению с экспериментальным контролем (2) на 33,3 % и 25 % соответственно, что свидетельствовало о более низком уровне формирования приспособительных реакций эпителиоцитами (табл. 15). Количество пар с умеренной обратной зависимостью – две: между диеновыми конъюгатами и площадью ядра базальной клетки ($r = -0,40, p < 0,01$), малоновым диальдегидом и площадью базальной клетки ($r = -0,50, p < 0,01$). Число внутрисистемных взаимодействий по сравнению с экспериментальным контролем не изменялось, а сила связи увеличивалась (2). Была установлена умеренная обратная зависимость между тучными клетками и площадью ядра базальной клетки (2) ($r = -0,44, p < 0,01$).

При сравнительном анализе исследуемых показателей в группе старых экспериментальных животных при введении дигидрокверцетина и общем охлаждении организма выявлено увеличение общего числа на 33,3 % и незначительное уменьшение силы межсистемных связей по сравнению с экспериментальным контролем (табл. 15).

Количество умеренных обратных связей 4 между диеновыми конъюгатами и числом базальных клеток ($r = -0,48, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и площадью базальной клетки ($r = -0,68, p < 0,01$), диеновыми конъюгатами и площадью ядра базальной клетки ($r = -0,42, p < 0,01$), малоновым диальдегидом и площадью ядра базальной клетки ($r = -0,48, p < 0,01$). Прямых связей две: малоновым диальдегидом и числом базальных клеток ($r = -0,47, p < 0,01$), α -токоферолом и площадью базальной клетки ($r = 0,63, p < 0,01$). Внутрисистемных связей между морфометрическими показателями клеток слизистой оболочки дыхательных путей по сравнению с экспериментальной группой выявлено не было (Рис. 104).

В группе старых экспериментальных животных, которым вводили арабиногалактан на фоне общего охлаждения организма (2), отмечалось уменьшение

132

общего числа на 25 % и силы на 14,5 % межсистемных взаимосвязей по сравнению с экспериментальным контролем (2) (табл. 15). Количество умеренных связей три: две обратных связи между малоновым диальдегидом и числом базальных клеток ($r = -0,41, p < 0,01$), α -токоферолом и площадью базальной клетки ($r = 0,57, p < 0,01$), одна прямая связь между α -токоферолом и площадью ядра базальной клетки ($r = 0,44, p < 0,01$). Установлены две внутрисистемные умеренные обратные связи между тучными клетками и площадью базальной клетки ($r = -0,69, p < 0,01$), тучными клетками и площадью ядра базальной клетки (3) ($r = -0,52, p < 0,01$), что свидетельствовало о более значимом влиянии арабиногалактана на регенерационную активность эпителиоцитов в группе старых экспериментальных животных (Рис. 105).

Таблица 15 – Характеристика корреляционных связей между системой ПОЛ-АОЗ в тканях легкого и клеточным составом эпителия слизистой оболочки дыхательных путей экспериментальных животных разных возрастных групп
Возраст 6 – 7 месяцев 19 – 20 месяцев

Вид эксперимента I II III IV I II III IV

Межсистемные корреляционные связи

ДК – число БК 0,47 -0,75 -0,50 - -0,49 -0,41 -0,48 -

ДК – площадь БК - - - - -0,52 -0,68 -

ДК – площадь ядра БК -0,42 -0,62 -0,53 -0,40 - 0,54 -0,42 -

МДА – число БК - - - - -0,74 0,47 -0,41

МДА – площадь БК - - -0,88 -0,50 - - - -

МДА – площадь ядра БК -0,42 - 0,56 - 0,40 - -0,48 -

α -токоферол – площадь БК - 0,42 0,62 - 0,41 - 0,63 0,57

α -токоферол – площадь ядра БК - - 0,58 - 0,58 - - 0,44

Внутрисистемные корреляционные связи

ТК – число БК - - - - -0,45 - -

ТК – площадь БК -0,49 - - - - -0,69

ТК – площадь ядра БК - -0,40 -0,80 -0,44 - - -0,52

Общее число межсистемных

связей 3 3 6 2 4 4 6 3

Число прямых связей 1 - 3 - 2 1 2 1

Число обратных связей 2 3 3 2 3 4 2

Сила связей 0,44 0,60 0,61 0,45 0,47 0,55 0,53 0,47

Общее число внутрисистемных

связей 1 1 1 1 - - - 2

Число прямых связей 1 1 - - - - -

133

Число обратных связей - - 1 1 - - - 2

Сила связей 0,49 0,40 0,80 0,44 - - - 0,61

Примечание: I – интактные животные; II – при общем охлаждении организма животных; III –

при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма; IV – при введении

арабиногалактана и общем охлаждении организма.

Между показателями системы ПОЛ-АОЗ в тканях легкого и клеточным

составом эпителия слизистой оболочки дыхательных путей в **группе молодых**

экспериментальных животных постоянно сохранялись корреляции: диеновые

конъюгаты ² – площадь ядра базальной клетки ², малоновый диальдегид – площадь

базальной клетки, ² тучные клетки – площадь ядра базальной клетки. В группе

старых экспериментальных животных: α – токоферол – площадь базальной

клетки, α – токоферол – площадь ядра базальной клетки ³, малоновый диальдегид –

число базальных клеток.

На основании полученных результатов корреляционного анализа в группе

молодых и старых экспериментальных животных, которым вводили природные

антиоксиданты: дигидрохверцетин или арабиногалактан, предложена

концептуальная схема закономерностей изменения системы ПОЛ-АОЗ в

периферической крови и клеточным составом, отражающим регенерационную

активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при действии холода

(рис. 102-105).

Рис. 102. Концептуальная схема изменений системы ПОЛ-АОЗ

периферической крови и клеточным составом эпителия слизистой оболочки

дыхательных путей при введении дигидрохверцетина на фоне охлаждения

организма животных в возрасте 6 – 7 месяцев.

тучные клетки – площадь ядра БК, $r = -0,80$

тучные клетки – число БК, $r = -0,67$

тучные клетки – площадь БК, $r = -0,64$

134

Рис. 103. Концептуальная схема изменений системы ПОЛ-АОЗ

периферической крови и клеточным составом **эпителия слизистой оболочки**

дыхательных путей при введении арабиногалактана ² на фоне охлаждения

организма животных в возрасте 6 – 7 месяцев.

Рис. 104. Концептуальная схема изменений системы ПОЛ-АОЗ

периферической крови и клеточным составом эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при введении дигидрохверцетина на фоне охлаждения организма животных в возрасте 19 – 20 месяцев.

ДК – площадь БК, $r = -0,53$

ДК – число БК, $r = -0,50$

ДК – площадь ядра БК, $r = -0,61$

МДА – площадь БК, $r = -0,51$

тучные клетки – площадь

ядра БК, $r = 0,62$

α -токоферол – площадь БК, $r = 0,64$

тучные клетки – площадь БК, $r = -0,77$

тучные клетки – площадь ядра БК, $r = -0,72$

α -токоферол – число КК, $r = 0,60$

ДК – площадь ядра БК, $r = 0,58$

ДК – площадь БК, $r = 0,54$

ДК – площадь ядра КК, $r = 0,40$

135

Рис. 105. Концептуальная схема закономерностей изменения системы

ПОЛ-АОЗ и клеточным составом эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при введении арабиногалактана ² и действии холода на организм

животных в возрасте 19 – 20 месяцев.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Длительное действие стрессового холодового фактора на организм оказывает неблагоприятное воздействие на эпителий дыхательных путей. Одним из важных механизмов, ответственных за морфофункциональные нарушения эпителия дыхательных путей, является окислительный стресс. Непрерывное развитие и прогрессирование окислительного повреждения клеток реснитчатого эпителия дыхательных путей, приводит к развитию воспалительной реакции и истощению антиоксидантных механизмов защиты в легких [45, 90, 138, 144].

Одним из перспективных направлений воздействия на процессы свободнорадикального окисления путем коррекции антиокислительной активности представляется применение природных антиоксидантов, таких как дигидрохверцетин или арабиногалактан [37, 73, 91]. Однако закономерности их действия на обменные процессы и процессы регенерации эпителиальных клеток дыхательной системы для коррекции свободнорадикального окисления остаются по-прежнему малоизученными [40, 72, 100, 106].

ДК – площадь ядра БК, $r = -0,61$

ДК – площадь БК, $r = -0,53$

ДК – число БК, $r = -0,50$

МДА – площадь БК, $r = -0,51$

тучные клетки – число БК, $r = -0,47$

α -токоферол – площадь КК, $r = 0,66$

136

В наших исследованиях использование комплексного подхода к изучению влияния проокислительного холодового фактора и препаратов антиокислительного действия природного происхождения на характер морфофункционального состояния и регенерационной активности слизистой оболочки дыхательных путей у животных разных возрастных групп позволило установить степень морфологической устойчивости эпителиоцитов и этапность изменений эпителиостромальных взаимоотношений. Большое значение при этом имеет использование в эксперименте животных, у которых характер обменных процессов близок к метаболизму человека, в частности считают, что лёгкое крысы является наиболее удобной моделью [94, 104, 110, 124, 168].

Данные, полученные в ходе исследования слизистой оболочки дыхательных путей интактных животных, в основном совпадают с результатами исследований многих авторов [19, 20, 27, 63, 69]. По данным некоторых авторов показано, что при старении происходит снижение уровня метаболических процессов в организме, активация окислительных процессов и развитие структурных изменений в клетках эпителия органов дыхания [10, 54, 61, 130, 165].

В наших исследованиях детальный анализ количественных параметров различных эпителиоцитов и уровень регенерационной активности многоядного реснитчатого эпителия дыхательных путей у молодых (6 – 7 месяцев) и старых интактных животных (19 – 20 месяцев), позволил выявить целый ряд особенностей, связанных с их возрастом. У старых интактных животных установлено уменьшение числа реснитчатых клеток, особенно в краниальном

отделе трахеи, по сравнению с молодыми интактными животными. Кроме этого в составе эпителия этих животных присутствуют реснитчатые клетки с признаками апоптоза: частичного разрушения реснитчатого аппарата, вакуолизацией цитоплазмы и структурной перестройкой ядра. Количество бокаловидных эпителиоцитов в трахее выше у старых животных, особенно в каудальном отделе.

В многоядном реснитчатом эпителии органов дыхания возможно кратковременное увеличение плотности клеток в пласте, что является естественным процессом и связано либо с пролиферативной активностью, или с

137

миграцией клеточных элементов. Считают, что гибель клеток в эпителиальной ткани является ответом на увеличение клеточной плотности [101, 170]. Экструзия поврежденных клеток или элементов в состоянии апоптоза является важным регуляторным механизмом. Клетки в состоянии апоптоза распознаются неизменными соседними клетками и элиминируются посредством выталкивания из пласта (экструзия). Ядра промежуточных элементов часто изменяют свою локализацию, при этом наблюдается появление их цитоплазмы над поверхностью, а в дальнейшем происходит полное выделение клетки. Число промежуточных клеток в эпителии трахеи у старых интактных животных по сравнению с молодыми уменьшается, что, вероятно, связано с активацией процесса элиминации.

Уровень экструзии эпителиоцитов увеличен в слизистой трахеи у старых интактных животных. Причем, если у молодых интактных животных экструзии обычно подвергаются эпителиоциты с неизменными ядрами, то у старых крыс чаще встречаются клетки, имеющие нетипичное строение ядра.

Следовательно, у старых интактных животных более часто происходит сброс морфологически измененных клеток из эпителиального пласта. Также, у старых интактных животных снижается уровень митотической активности базальных клеток, на что указывает уменьшение их числа, снижение активности щелочной фосфоэстеразы в мембранах камбиальных элементов. Имеются данные, указывающие, что митотический индекс у мышей самцов 18 – 24 месячного возраста почти на 50 % ниже по сравнению с молодыми животными [200, 212].

В ряде работ показано, что митотическое деление эпителиоцитов снижается по направлению от трахеи к дистальным бронхам [100, 101, 150, 190]. По мере уменьшения калибра бронхов и относительного увеличения в составе эпителиальной выстилки клеток с высокой функциональной специализацией возрастает доля их участия в процессе пролиферации [110, 175, 198]. Об этом же свидетельствует уровень экструзии в эпителии внутридолевых бронхов. В соединительной ткани слизистой оболочки трахеи и бронхов у старых животных

138

выявляется более грубые пучки коллагеновых волокон и значительные зоны лимфоидной инфильтрации. Ряд авторов указывает, что с возрастом в

эпителиальной выстилке органов дыхания происходят изменения

эпителиостромальных взаимоотношений, что приводит к активации

инволютивных процессов [102, 104, 213].

Клетки Клара входят в состав непрерывной выстилки бронхиол и являются

прогениторными элементами эпителия, они способны к самообновлению и

дифференцировке в реснитчатые эпителиоциты [208]. Популяция клеток Клара

эпителиальной выстилки бронхиол в норме имеет наиболее низкий

пролиферативный потенциал, активация которого происходит в условиях

экстремальных воздействий [135, 200]. В терминальной бронхиоле у интактных

животных различных возрастных групп количество реснитчатых клеток и клеток

Клара примерно одинаково, но у старых животных клетки Клара обычно

располагаются в составе эпителия очагами, и достаточно часто наблюдается их

элиминация – утрата контакта с базальной мембраной.

Для многоядного эпителия, выстилающего воздухоносные пути,

характерно длительное существование дифференцированных клеток и

продолжительный митотический цикл базальных (камбиальных) клеток,

значительная часть последних находится, по-видимому, в фазе покоя. Многие

исследователи признают, что в восстановлении мерцательного эпителия

воздухоносных путей определенная роль принадлежит внутриклеточной

регенерации [103, 110, 135, 167, 200]. Поэтому данная тканевая система обладает

мощными пролиферативными возможностями, которые особенно отчетливо

выявляются при репаративной регенерации [45].

Реакция организма на действие низких температур у высших животных и

человека является предметом всестороннего изучения в связи с негативным

влиянием холода на структуры органов дыхания. Действие общего охлаждения на

организм старых животных ведет к более значительным изменениям

пролиферативных процессов в эпителии, что возможно извращает направление их

дифференцировки, при этом появляется мозаичная картина в структуре

139

эпителиального пласта, что связано с усилением процесса апоптоза. Выявляются

«светлые» реснитчатые клетки, имеющие деструктивные изменения ядра и

органоидов. Изменения структуры митохондрий является одним из показателей

перестройки мерцательных клеток, а именно: увеличение их размера,

вакуолизация, просветление матрикса и частичное разрушение, что, по мнению

ряда авторов, связано с дефицитом кислорода в клетке и часто возникает в

условиях функционального напряжения [6, 42, 45].

Для «светлых» эпителиоцитов характерны явления вакуолизации и

деструкции ультраструктур цитоплазмы, что наиболее часто является следствием

повышенной активности лизосомальных ферментов. Деструкция эпителия ведет к

гиперреактивности дыхательных путей за счет увеличения проницаемости

слизистой оболочки трахеи и бронхов [20] [92, 103, 107, 167]. Данная картина в

структуре эпителия преобладает у старых животных. В составе эпителиального

пласта обращает на себя внимание появление широких межклеточных

промежутков, формирующих систему лабиринтов, заполненных тканевой

жидкостью, кроме этого выявлено, что клетки эпителия не всегда имеют плотные

контакты с базальной мембраной.

Наблюдается увеличение количества бокаловидных клеток, содержащих

немногочисленные гранулы в апикальной части, большая часть секрета

располагается в реснитчатом слое. Это наиболее характерно для краниального

отдела трахеи.

По сравнению с молодыми экспериментальными животными, число

базальных клеток при действии холода снижено у старых крыс, хотя реакция на

щелочную фосфоэстеразу в их мембранах достаточно высокая, но гранулы

распределены неравномерно. При охлаждении наиболее часто элиминации

подвергаются промежуточные клетки, которые являются переходными формами в

ходе развития бокаловидных и реснитчатых элементов из базальных клеток.

Количество промежуточных клеток значительно снижается, особенно **8** в

краниальном отделе трахеи у молодых животных.

Прежде чем элиминировать, клетки находящиеся в состоянии апоптоза,

140

уменьшаются в размерах, но при этом разъединение их с соседними элементами

происходит постепенно, что свидетельствует о продолжающемся обмене [170,

196]. Проведенные исследования доказывают, что барьерная функция эпителия

сохраняется при высоком уровне элиминации, что вероятно связано с

динамической реорганизацией десмосом и плотных контактов во время экстрюзии **5**

[171, 213]. Уровень экстрюзии эпителиоцитов и число клеток, имеющих

измененные ядра, более значительно возрастает у старых животных.

Между эпителиоцитами появляются зоны, где межклеточные пространства

расширены и заполнены негомогенным содержимым. В составе эпителия растёт

число тучных клеток, мигрирующих из соединительной ткани. Часть из них имеет

многочисленные гранулы в цитоплазме, в ряде случаев наблюдается появление

гранул между эпителиоцитами в межклеточном пространстве. Тучная клетка,

являясь местом активного синтеза, депонирования и секреции, антагонистических

биологически активных веществ, способна удалять избыток биогенных аминов из

среды [20, 90]. Вероятно, миграция тучных клеток **70** через эпителий является

универсальным механизмом регуляции клиренса функционально отживших

элементов **72**, за счёт их выхода в просвет дыхательных путей [2, 67].

Повышение миграции тучных клеток при холодовом воздействии, вероятно, **15**

связано с передачей информационного воздействия на базальные (стволовые)

клетки, что приводит к блокированию митозов малодифференцированных клеток

в эпителии [135, 174]. Известно, что при действии охлаждения в тканях

происходит накопление биологически активных веществ **8**. Данные литературы

свидетельствуют, что тучные клетки способны освобождать ткани от таких

продуктов как гистамин и серотонин [62, 125]. Тучные клетки адсорбируют в

своей цитоплазме избыток биогенных аминов и тем самым способствуют

уменьшению их действия на организм. Дегрануляция тучных клеток, уменьшение

в них гранул, при общем охлаждении организма, по мнению ряда авторов,

свидетельствует в пользу приспособительной реакции к действию холода [114,

135]. Контакт тучных клеток с мембраной «светлых» эпителиоцитов вероятно

приводит к активации процесса дегрануляции и разрушению гранул.

141

Действие холода ведет к снижению регулирующего влияния базальной

мембраны в процессах транспорта веществ и миграции клеток. Об этом же

свидетельствует уменьшение активности в базальной мембране щелочной

фосфомоноэстеразы, что, в конечном итоге, приводит **134** к неуправляемому

перемещению клеток в эпителии. Если при **36** обычных ситуациях миграция клеток в

эпителиальном пласте, по всей видимости, идет по каналам, сформированным в

определенных зонах, и этот процесс регулируется, то в условиях патологии,

клетки начинают мигрировать в различных участках, нарушая при этом

взаимосвязь между эпителиоцитами и усиливая структурную перестройку пласта **20**

[107, 111].

У старых экспериментальных животных при общем охлаждении организма

отмечается снижение компенсаторных резервов многорядного реснитчатого

эпителия, на что указывает уменьшение до минимальных значений числа

базальных (камбиальных) клеток, площади самой клетки и ядра, рост количества

гипертрофированных реснитчатых элементов и клеток с морфологическими

признаками апоптоза.

Дегрануляция тучных клеток в эпителии, которая отмечается после действия

холодового фактора, приводит не только к секреции гранул тучных клеток, но и к полному их разрушению. При этом освобождается большое количество биологически активных веществ, способных вызвать повреждение эпителиального барьера, изменить функциональную активность стволовых клеток и таким образом ²⁰, способствовать снижению регенерационного потенциала.

Подобные изменения могут привести к стойкому нарушению ферментативной активности эпителиоцитов, дестабилизации их мембран и развитию деструктивных изменений. В составе эпителия внутридолевого бронха при действии холодового фактора, особенно у старых животных, в некоторых реснитчатых клетках выявляются структурные изменения: уменьшение числа ресничек, вакуолизация цитоплазмы, деструктивные изменения ядра, а также возрастает уровень экстрюзии эпителиоцитов. По мнению ряда авторов, появление очагов перестройки эпителия, расценивается как нарушение дифференцировки

142

клеток, в результате действия раздражителя в период регенераторной пролиферации [40, 109, 215, 221]. У старых животных выявляются более многочисленные лимфоидные инфильтраты в соединительной ткани и зоны миграции этих клеток в эпителий. В просвете долевых и мембранозных бронхов появляется скопление большого количества секрета, в котором присутствуют многочисленные макрофаги. Есть данные, указывающие, что в эпителии бронхов у пожилых лиц происходит накопление ШИК – позитивных веществ в

реснитчатых клетках, увеличение числа бокаловидных элементов, ослабление связи эпителиального пласта с базальной мембраной ¹⁷ [19, 42, 63]. В терминальных бронхиолах число реснитчатых клеток изменяется незначительно, в то же время у старых животных чаще выявляются деструктивные изменения их ядер. В цитоплазме клеток Клара у молодых животных присутствуют многочисленные гранулы, заполненные секретом, что указывает на активность этих элементов. У старых крыс отмечено значительное уменьшение площади клетки Клара и ее ядра, а также почти отсутствие в цитоплазме секреторных гранул.

Дигидрокверцетин относится к группе флавоноидов, имеющих в своем составе подвижный атом кислорода, который блокирует реакции ПОЛ.

Дигидрокверцетин прерывает процессы ПОЛ в мембранах клеток, проникает в их цитоплазму защищая от повреждающего действия свободных радикалов,

эффективно корректирует нарушение в различных звеньях антиоксидантной системы ⁶⁴ [122]. Противовоспалительная активность дигидрокверцетина

обусловлена его антиоксидантным действием и способностью ингибировать энзимы, вырабатываемые при воспалении, с последующим торможением медиаторов воспаления [65]. Дигидрокверцетин оказывает

капилляропротекторное действие, уменьшает проницаемость и ломкость

капилляров, улучшает микроциркуляцию ⁶⁴, нормализует проницаемость сосудистой стенки, препятствует развитию дистрофических изменений в тканях [60, 74].

Дигидрокверцетин активирует процессы регенерации, оказывает защитное действие на клетки, усиливает метаболические процессы между клетками

эпителия, соединительной тканью и базальной мембраны ¹ [26, 37, 65, 82, 122].

143

Изучение вопросов об активации пусковых факторов старения организма указывает на то, что этот процесс связан с генетической нестабильностью.

Изменения, возникающие в ходе размножения и дифференцировки клеток, обычно сопровождаются сбоями в системах ПОЛ и антиоксидантной защиты [13].

Накопление соматических мутаций в клетке, в результате воздействия эндогенных метаболитов продуктов ПОЛ, может рассматриваться как один из ¹³⁴ механизмов

процесса старения [46, 68]. Имеются доказательства, указывающие, что

дигидрокверцетин обладает чрезвычайно низкой мутагенной активностью и вероятно его применение может снижать развитие мутаций клеток [37, 123, 185,

Действие дигидрохверцетина на фоне общего охлаждения приводит к сохранению типичного плана строения эпителия, как в краниальном, так и каудальном отделах трахеи. В составе эпителия, особенно у молодых животных приводит к уменьшению числа реснитчатых клеток, имеющих электронно-светлую цитоплазму, особенно в краниальном отделе трахеи, а также способствует снижению количества бокаловидных клеток. У старых животных секреторная активность клеток изменяется незначительно, а продукция ШИК – позитивных веществ в составе секрета сохраняется на высоком уровне. Число промежуточных клеток в эпителиальном пласте увеличивается, особенно у молодых экспериментальных животных. Хотя экструзия эпителиоцитов уменьшается, среди них возрастает число клеток с неизменной структурой ядра. Считают, что экструзия клеток может происходить и без повреждения структур, причем эти элементы способны достаточно долго сохранять свою жизнеспособность. Исследования ряда авторов показывают, что запуск механизмов экструзии жизнеспособных эпителиоцитов может быть связан с увеличением плотности клеток, механическом натяжении пласта, неправильной клеточной геометрии части дифференцированных клеток **5** [102, 171]. Согласно этим представлениям клеточная элиминация помогает восстановлению структурной организации ткани путем удаления из пласта жизнеспособных клеток неправильной формы [169, 196, 213].

Более того введение дигидрохверцетина на фоне общего охлаждения организма экспериментальных животных сопровождается возрастзависимым увеличением площади, размера ядра и повышением активности щелочной фосфомоноэстеразы в оболочках клеток базальных эпителиоцитов, что свидетельствует о возрастании их функциональной активности и усилении процессов митотического деления [103, 131]. Об этом же свидетельствуют результаты корреляционного анализа, показывающие наличие у молодых экспериментальных животных обратной связи между числом тучных клеток и базальных клеток, а также между числом тучных клеток и площадью базальных клеток и их ядра у молодых и старых **7** животных.

Следует также отметить, что дифференцировка транзиторных форм в реснитчатые клетки происходит очень быстро в течение одних суток. Доказано, что эти клетки при этом утрачивают способность к делению [100, 102, 167]. У экспериментальных животных при введении дигидрохверцетина отмечается возрастзависимое снижение миграционной активности тучных клеток, которые располагаются в эпителии поодиночке и содержат в цитоплазме многочисленные гранулы, что, вероятно, свидетельствует о снижении уровня дегрануляции, способствующей повышению функциональной активности стволовых клеток и росту регенерационного потенциала. На это также указывает увеличение активности щелочной фосфомоноэстеразы в базальной мембране, что обеспечивает усиление проницаемости и транспорт веществ из кровеносных сосудов, создавая предпосылки для активизации метаболических процессов [34, 42, 90]. Одна из функций щелочной фосфомоноэстеразы, по мнению ряда авторов, участие в переносе различных метаболитов через клеточную мембрану. Вероятно, с этим связана преимущественная локализация фермента в клеточных оболочках и базальных мембранах [34, 132].

Следовательно, локализация щелочной фосфомоноэстеразы в зоне базальных мембран эпителия **105** и кровеносных сосудов, по-видимому, маркирует те участки, через которые совершается транспорт различных продуктов и метаболитов. Установленное увеличение активности щелочной

фосфомоноэстеразы обуславливает повышение уровня дифференцировки стволовых клеток, а также способствует восстановлению взаимосвязи с

клеточным окружением и активирует обмен веществ между клетками и базальной мембраной.

Аналогичная динамика при введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма молодых и старых животных отмечена в долевых и мембранозных бронхах. В просвете бронхов у старых животных происходит накопление секрета за счет повышения активности бокаловидных клеток. В терминальных бронхиолах у молодых животных реснитчатые клетки чаще имеют типичный план строения, число клеток Клара повышается, среди них часто встречаются картины митоза, что свидетельствует о повышенной функциональной активности эпителия. У старых животных уменьшается число реснитчатых клеток, но при этом увеличивается площадь клетки Клара и ее ядра, что указывает на возрастание пролиферативной активности.

Арабиногалактан – это комплексный природный полисахарид, обладающий широким спектром биологических свойств: способен улучшать анаболические процессы в организме; снижать отрицательные эффекты свободных радикалов и продуктов ПОЛ; защищать и укреплять оболочки клеток, активировать их метаболизм и участвовать как клеточный протектор эпителия; ингибировать рост и способствовать разрушению клеток при злокачественных опухолях [29, 37, 81, 206, 216]. Учитывая то, что арабиногалактан имеет широкое применение в ряде отраслей, обеспечивающих жизнедеятельность человека, данный препарат представляет интерес с точки зрения, как это вещество воздействует на организм в ходе экстремальных ситуаций – при общем охлаждении, и каково его влияние на животных разных возрастных групп [13, 37].

В результате исследования показано, что применение арабиногалактана на фоне действия низких температур позволяет большинству реснитчатых клеток сохранить типичный план строения. Вместе с тем выявляются элементы, имеющие электронно-плотную цитоплазму и хорошо развитые органоиды, а также клетки, у которых электронно-светлая цитоплазма с немногочисленными

146

органоидами, количество бокаловидных клеток уменьшается. Вышеописанная картина наиболее характерна для «старых» животных. Подобная перестройка свидетельствует о высокой степени функционального напряжения в эпителии. Число промежуточных клеток у «молодых» животных, особенно в

краниальном отделе трахеи, значительно возрастает. Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу, выявляется в мембранах в виде многочисленных крупных гранул ³, что указывает на высокую активность фермента [132]. То есть происходит интенсификация процесса дифференцировки эпителиоцитов, при этом у молодых экспериментальных животных число базальных клеток сохраняется на более высоком уровне, чем у «старых» крыс. В обеих группах животных возрастает размер базальной клетки и площадь ее ядра, что указывает на подготовку к митотическому делению.

Полученные данные свидетельствуют о снижении числа малодифференцированных клеток и появлении в составе эпителия высокоспециализированных элементов, а именно реснитчатых, т.е. в ходе морфогенеза регенераторного процесса происходит структурно-функциональная специализация, данные явления преобладают у молодых животных [44, 131, 167]. Экструзия эпителиоцитов более значительно снижается у старых крыс. Причем, если у «молодых» животных большая часть элиминированных эпителиоцитов в основном представлена морфологически жизнеспособными элементами, то у «старых» животных этот процесс, возможно, связан с наличием признаков апоптоза в клетках [43, 100, 170]. Кроме этого, как у «старых» животных и, особенно у «молодых», уменьшается число тучных клеток в составе эпителия, что указывает на снижение скорости обменных процессов между эпителием и соединительной тканью в некоторых участках слизистой оболочки

[115]. В пользу этого свидетельствуют данные, указывающие на появление в собственной пластинке слизистой очаговых скоплений волокон с повышенным содержанием в этих участках ШИК – позитивных веществ.

В терминальных бронхиолах число эпителиоцитов снижается, при этом у «старых» животных наблюдается уменьшение числа клеток Клара, которые

147

являются источником возобновления эпителия этого отдела. У «молодых» и «старых» животных наблюдается увеличение размера клетки Клара и ее ядра, что, возможно, указывает на подготовку клетки Клара к делению.

По данным корреляционного анализа между показателями клеточного состава эпителия слизистой оболочки дыхательных путей, установлена умеренная связь числа тучных клеток с площадью ядра базальной клетки у «молодых» экспериментальных животных, тучных клеток с числом базальных клеток – у «старых» животных, что свидетельствовало о меньшем адаптогенном эффекте арабиногалактана по сравнению с дигидрохверцетином.

Известно, что в норме реакции ПОЛ являются факторами обновления, в то время как в условиях патологии чрезмерное повышение их обуславливает повреждение структур. Для получения полного представления о реакциях ПОЛ целесообразно определить взаимоотношение веществ, появляющихся на первых этапах – диеновые конъюгаты и гидроперекиси, от изменений, возникающих впоследствии – ТБК-активные продукты [17, 51]. Активация гидроперекисных процессов происходит либо в результате чрезмерно усиленной генерации активных радикалов кислорода, либо вследствие недостаточности антиоксидантных механизмов, либо при сочетании двух этих явлений [14, 18, 25].

Уровень реакции ПОЛ в тканях контролируется антиоксидантной системой, которая обеспечивает не только защиту от повреждающего действия свободных радикалов, но и влияет на адаптационные реакции ⁹ [73, 119]. В динамике охлаждения установлен фазовый характер течения ПОЛ у экспериментальных животных разных возрастных групп. Одним из универсальных механизмов защиты клетки от избыточного ПОЛ служит многоуровневая система антиоксидантов [58, 143]. Изучение крови, которая является межорганным связующим звеном, и наиболее метаболически активной тканью, позволяет по ее состоянию судить об антиоксидантной и прооксидантной системах всего организма в целом [32, 49].

Анализ показателей у молодых интактных животных по сравнению со старыми интактными животными выявил в периферической крови более низкий

148

уровень продуктов реакции перекисного окисления липидов последних. В ткани легкого показатели ПОЛ у старых животных несколько выше, чем у молодых, у которых легкие оказываются более устойчивыми к усилению реакции ПОЛ, что возможно связано с интенсивностью метаболизма липидов и активностью ферментного звена антиоксидантной системы [31, 96, 140].

Старение сопровождается разнонаправленными изменениями ⁸³ активности ферментов, в том числе и антиоксидантов, ⁸³ что в свою очередь позволяет ¹³⁴ поддерживать на новом функциональном уровне многие физиологические процессы ⁸³. Считают, что с возрастом происходит увеличение повреждающего действия ПОЛ и его продуктов, что приводит к накоплению неспецифических модификаций белков и ферментов, росту повреждений в клеточных компартментах ⁷. Современная свободно-радикальная теория старения предполагает, что наступающая с возрастом дизадаптация связана с повреждениями важных биомолекул продуктами ПОЛ [9, 12, 49]. Полагают также, что модификация структуры плазматической мембраны – один из наиболее вероятных механизмов нарушения регуляции тканевого метаболизма при старении. Развивающаяся при старении гипоксия, приводя к изменению

окислительного гомеостаза в организме, может служить одним из механизмов,

вызывающих активацию **47** свободнорадикального окисления и пероксидацию липидов [7, 13, 36, 61]. Охлаждение организма экспериментальных животных приводит к возрастзависимому, более выраженному у старых, чем у молодых животных, увеличению содержания в периферической крови и тканях легких

продуктов ПОЛ – гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов и малонового

диальдегида **52**. В физиологических условиях активация ПОЛ компенсируется увеличением образования ферментативных и неферментативных антиоксидантов, что позволяет сдерживать окислительные процессы клетках и тканях. При срыве адаптивных возможностей АОЗ организма процессы ПОЛ активируются и в тканях накапливаются продукты окисления. Низкая температура воздуха является проокислительным фактором, который угнетает систему АОЗ организма [58, 143]. На фоне охлаждения в тканях неизбежно возникают процессы деструкции

149

мембран клеток как результат увеличение продуктов ПОЛ. В эксперименте установлено, что действие низких температур сопровождается более выраженным снижением показателей церулоплазмينا и α -токоферола в периферической крови и тканях легкого у старых животных, по сравнению с молодыми.

Введение дигидрохверцетина при охлаждении организма **молодых и старых животных** приводит к снижению в периферической крови всех показателей ПОЛ

(гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид **9**) на фоне **42** повышения антиокислительной активности церулоплазмينا и α -токоферола. В тканях легких снижаются показатели гидроперекисей липидов и диеновых конъюгатов и увеличивается содержание α -токоферола. Введение арабиногалактана молодым животным при общем охлаждении организма приводит к снижению в периферической крови уровня исследуемых продуктов ПОЛ при росте содержания церулоплазмينا. В ткани легкого уменьшается образование гидроперекисей липидов. У старых экспериментальных животных введение арабиногалактана вызывает снижение активности ПОЛ в периферической крови и ткани легкого – на этапе образования диеновых конъюгатов. Значимого увеличения антиокислительной активности при этом не происходит.

Следовательно, дигидрохверцетин по сравнению с арабиногалактаном имеет более значимый антиоксидантный эффект на фоне общего охлаждения, который выражается в снижении активности ПОЛ, как в периферической крови, так и в ткани легкого, что определяет степень морфологической устойчивости эпителиоцитов и характер эпителиостромальных взаимоотношений у животных разных возрастных групп.

Данное высказывание подтверждалось корреляционным анализом, который позволил установить наиболее значимые связи, отражающие зависимость параметров системы ПОЛ-АОЗ, как в периферической крови, так и тканях легких, и морфоструктурой эпителиальных клеток и эпителиостромальными взаимоотношениями у животных разных возрастных групп при введении дигидрохверцетина и арабиногалактана. Следует указать, что распад

150

корреляционной пары или смена ее направленности и силы может служить критерием оценки срыва адаптивных взаимоотношений между параметрами исследуемых систем.

Введение дигидрохверцетина при общем охлаждении организма молодых животных характеризовалось увеличением числа и силы интегративных связей между параметрами системы **ПОЛ-АОЗ в периферической крови и клеточным составом эпителиального пласта** **2** по сравнению с животными, которым вводили арабиногалактан. Установлена сильная обратная зависимость диеновых конъюгатов с числом базальных клеток и клеток Клара, их площадью и площадью

ядра; малоновым диальдегидом с площадью базальной клетки; прямая сильная связь α -токоферола с числом клеток Клара и площадью ее ядра. В группе старых экспериментальных животных установлены умеренные связи диеновых конъюгатов с площадью базальной клетки и ее ядра, площадью ядра клетки Клара; малоновым диальдегидом – с площадью ядра базальной клетки; сильная связь α -токоферола с площадью клетки Клара, умеренная – с площадью ее ядра. Выявленные закономерности указывают на то, что дигидрохверцетин обладает выраженным возрастзависимым антиокислительным и адаптогенным эффектом, усиливающим регенерационную активность эпителиального пласта дыхательных путей животных при действии холода.

Введение арабиногалактана при общем охлаждении организма животных характеризуется наличием меньшего числа и силы интеграционных связей между параметрами системы ПОЛ-АОЗ в периферической крови и клеточным составом эпителиального пласта **2**, которые в группе молодых животных проявлялись умеренной обратной зависимостью диеновых конъюгатов с числом базальных клеток, площадью клеток и ее ядра; малоновым диальдегидом – с площадью базальной клетки; прямой связью α -токоферола – с площадью базальной клетки; тучных клеток – с площадью ядра базальной клетки. У старых экспериментальных животных – наличием обратной умеренной связи диеновых конъюгатов с площадью базальных клеток и клетки Клара; малоновым диальдегидом – с площадью ядра базальной клетки **3**; прямой связи α -токоферола с

151

площадью клетки Клара.

Следовательно, своевременная и правильно подобранная коррекция реакции ПОЛ может обуславливать снижение действия цитотоксических факторов в условиях общего охлаждения [13, 26, 89]. Основываясь на литературных данных об антиоксидантном действии природных адаптогенов, можно предположить, что их использование было бы эффективным у пациентов старческого возраста с целью снижения активности ПОЛ и замедления темпа возрастной инволюции. Изменения интенсивности ПОЛ на фоне антиоксидантной терапии более выражены у животных старших возрастных групп, а именно при этом наблюдается: значительное уменьшение эндогенной интоксикации, понижение интенсивности окислительных процессов в крови и повышение антиоксидантной защиты, по сравнению с молодыми [7, 13, 36, 39, 99]. По мнению ряда авторов с увеличением возраста на фоне применения антиоксидантов возможно снижение продуктов ПОЛ, что связано с изменением жирокислотного состава мембран клеток. Длительное воздействие антиоксидантами способно замедлить физиологическое старение, предотвращать появление повреждений в генетическом аппарате продуктами ПОЛ **9** [15, 130, 138, 207]. Этот факт свидетельствует о герпрофилактическом действии антиоксидантных препаратов.

Заключение

Задачи, позволяющие решить вопросы регенерации, состоят как в морфологическом обосновании этих явлений, так и в расшифровке механизмов регуляции, без чего невозможно управление любым процессом. Известно, что в ранние сроки после действия холодового фактора происходит существенное снижение скорости клеточного обновления, при этом процесс регенерации обеспечивается за счет пролиферативной активности сохранившихся стволовых клеток. Восполнение пула стволовых клеток и их регенерационной активности является весьма перспективным направлением в плане изучения регенераторного процесса, особенно при старении организма. Низкая температура является

152

проокислительным фактором, изменяющим морфофункциональное состояние клеток эпителиального пласта слизистой оболочки, а также процессы митотической активности, дифференцировки и регенерации. Благодаря экспериментальной модели была изучена патогенетическая роль стволовых клеток

в реализации адаптивной реакции организма при изменении температурных параметров окружающей среды и коррекции нарушений системы ПОЛ природными антиоксидантами – дигидрокверцетином и арабиногалактаном. Разработаны концептуальные схемы патофизиологических эффектов влияния этих препаратов на морфофункциональное состояние слизистой оболочки дыхательных путей и систему ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легких у животных разных возрастных групп при действии холода, которые представлены на рисунках 106-107.

Подводя итог можно сказать, что **134** исследование взаимосвязи морфофункциональных параметров и регенерационного потенциала эпителия слизистой оболочки органов дыхания, а также показателей ПОЛ-АОЗ периферической крови на фоне применения природного антиоксиданта дигидрокверцетина, является важной и перспективной задачей при решении патофизиологической проблемы репаративной регенерации.

153

Введение дигидрокверцетина на фоне

охлаждения организма

Периферическая кровь

гидроперекиси липидов

диеновые конъюгаты

малоновый диальдегид

α -токоферол

церулоплазмин

ПОЛ АОЗ

Ткани легкого

гидроперекиси липидов

диеновые конъюгаты

α -токоферол

Щелочная фосфомоноэстераза

в мембране базальных клеток

Пролиферация, дифференцировка и регенерация клеток

154

Рис. 106. Схема патофизиологических изменений, возникающих при применении дигидрокверцетина и общем охлаждении на морфофункциональное состояние эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и систему ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легких у животных разных возрастных групп.

Введение арабиногалактана на фоне

охлаждения организма

Периферическая кровь

гидроперекиси липидов

диеновые конъюгаты

малоновый диальдегид

церулоплазмин (животные 6-7 месяцев)

ПОЛ АОЗ

Ткани легкого

гидроперекиси липидов (животные 6-7 месяцев)

диеновые конъюгаты (животные 19-20 месяцев)

α -токоферол (животные 6-7 месяцев)

Щелочная фосфомоноэстераза

в мембране базальных клеток

Пролиферация, дифференцировка и регенерация клеток

Эпителий терминальной

бронхиолы

Эпителий слизистой

оболочки трахеи

Митотическая активность

клеток Клара (увеличение

размера клетки Клара и

площади ее ядра)

Митотическая активность

БК эпителия (увеличение

площади клетки и ядра) у

животных 6-7 месяцев

Число реснитчатых клеток у

животных 19-20 месяцев

Экструзия эпителиоцитов с

неизменными ядрами у

животных 6-7 месяцев

Миграция тучных клеток

Дегрануляции

155

Рис. 107. Схема патофизиологических изменений, возникающих при применении

арабиногалактана и общем охлаждении на морфофункциональное состояние

эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и систему ПОЛ-АОЗ в

периферической крови и тканях легких у животных разных возрастных групп.

ВЫВОДЫ

1. Действие общего охлаждения на организм приводит к перераспределению

клеточного состава, снижению регенерационного потенциала в эпителии

слизистой оболочки трахеи и терминальных бронхиол. При этом в составе

реснитчатых клеток увеличивается число элементов с признаками апоптоза,

возрастает количество бокаловидных и снижается число промежуточных клеток **7**.

Выявляются в эпителиальном пласте многочисленные мигрирующие тучные

клетки, возрастает уровень элиминации, снижается митотическая активность

эпителиоцитов, на что указывает уменьшение площади и ядра базальных клеток в

трахее и клеток Клара в терминальных бронхиолах, а также понижается

активность реакции на щелочную фосфомоноэстеразу (морфологического

маркера стволовых клеток **1**). Подобные изменения в большей степени выражены в

группе животных в возрасте 19-20 месяцев.

2. Введение дигидрохлоркверцетина при общем охлаждении организма у

Эпителий терминальной

бронхиолы

Эпителий слизистой

оболочки трахеи

Числа клеток Клара

Умеренная митотическая

активность БК у животных

6-7 месяцев

Умеренная митотическая

активность (увеличение

площади клетки Клара и ее

ядра)

Умеренная экструзия

эпителиоцитов у животных

6-7 месяцев

Миграция тучных клеток в

эпителиальный пласт

156

животных в возрасте 6 - 7 месяцев позволяет сохранить типичный план строения

большинства реснитчатых клеток, сопровождающееся снижением уровня экстрюзии эпителиоцитов, миграции тучных клеток и увеличением количества промежуточных элементов. О повышении регенерационной активности эпителиоцитов свидетельствует рост площади и размера ядра базальных клеток, клеток Клара и увеличение активности щелочной фосфомоноэстеразы. У животных в возрасте 19-20 месяцев выявляется менее значимая аналогичная динамика всех показателей.

3. Особенностью морфологии эпителиального пласта слизистой оболочки трахеи у животных в возрасте 6 – 7 месяцев при введении арабиногалактана на фоне общего охлаждения является умеренный рост активности на щелочную фосфомоноэстеразу в мембранах малодифференцированных элементов, увеличение площади и размера ядра базальных клеток и клеток Клара. Снижается экстрюзия эпителиоцитов и уровень миграции тучных клеток. У животных в возрасте 19 – 20 месяцев все показатели менее значимы.

4. Действие общего охлаждения на организм обусловлено выраженным дисбалансом в системе перекисное окисление липидов – антиоксидантной защиты в группе животных особенно в возрасте 19 – 20 месяцев, что проявлялось в увеличении содержания в периферической крови продуктов липопероксидации 55 : гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, на фоне снижения уровня α -токоферола и церулоплазмينا. В тканях легкого более значимо повышалось содержание гидроперекисей липидов и диеновых конъюгатов при снижении показателя α -токоферола.

5. Введение дигидрокверцетина при общем охлаждении организма приводит к значительному антиоксидантному эффекту в периферической крови животных в возрасте 6-7 месяцев, что проявляется ростом α -токоферола, церулоплазмينا и снижением показателей ПОЛ. У животных в возрасте 19-20 месяцев изменение уровня реакций ПОЛ и АОЗ были менее значимы. При применении арабиногалактана на фоне общего охлаждения значительных изменений показателей антиокислительной активности у животных в возрасте 19-20 месяцев

157

в тканях легких не выявлено.

6. Интегративные взаимоотношения между системой ПОЛ-АОЗ в периферической крови 2 и тканях легкого, а также показателями клеточного состава эпителия дыхательных путей при введении дигидрокверцетина и общем охлаждении организма характеризуются достоверным возрастзависимым усложнением межсистемных и внутрисистемных связей, что указывает на выраженный антиоксидантный эффект препарата и стимуляцию 2 регенерационной активности эпителиоцитов. Взаимосвязь системы ПОЛ-АОЗ периферической крови 2 и тканях легких, а также морфометрических показателей эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при введении арабиногалактана и общем охлаждении ведет к возрастзависимому 2 уменьшению числа и силы межсистемных и внутрисистемных связей, что свидетельствует о более низком стабилизирующем эффекте препарата на окислительные и регенерационные процессы 2 в эпителиоцитах слизистой оболочки трахеи.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные экспериментальные данные могут быть использованы в учебном процессе медицинских вузов с целью расширения знаний о закономерностях и механизмах 60 антиоксидантного действия природных препаратов, таких как дигидрокверцетин и арабиногалактан. Материалы исследования вошли в учебные программы и используются в лекционных курсах и на 60 практических занятиях ряда кафедр 60 : нормальной и патологической физиологии, гистологии и биологии, патологической анатомии и геронтологии. Предложенный комплекс исследований регенерационной активности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей рекомендуется для внедрения в работу экспериментальных лабораторий с целью оценки влияния на организм различных

факторов (внешнее воздействие, действие препаратов и т.д.) с учетом возраста экспериментальных животных. Внедрен метод, позволяющий определить локализацию и оценить регенерационную активность базальных клеток в эпителии слизистой оболочки дыхательных путей с помощью электронно-

158

гистохимической реакции на щелочную фосфомоноэстеразу (маркера стволовых клеток). На основании разработанного патента No 2679422. Рос. Фед.: «Способ активации регенерационного потенциала эпителия трахеи старых крыс при общем охлаждении организма» обосновано применение дигидрокверцетина у лиц пожилого возраста.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – арабиногалактан

АОЗ – антиоксидантная защита

БК – базальные клетки

БоК – бокаловидные клетки

ГПЛ – гидроперекиси липидов

ДК – диеновые конъюгаты

ДКВ – дигидрокверцетин

КК – клетки Клара

МДА – малоновый диальдегид

ПК – промежуточные клетки

ПОЛ – перекисное окисление липидов

РК – реснитчатые клетки

СК – стволовые клетки

СРО – свободнорадикальное окисление

159

ТК – тучные клетки

ЦП – церулоплазмин

ЭЭК – экструзия эпителиальных клеток