

**МИНСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

На правах рукописи

ВАЛЛАДАРЕС ВАЛЛЕХОС

Хосе Рамон Абад

**Роль сурфактантной системы легких
в патогенезе пневмопатий**

14.00.24 - судебная медицина

14.00.15 - патологическая анатомия

А в т о р е ф е р а т

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Минск - 1993

Работа выполнена в Минском ордена Трудового Красного Знамени государственном медицинском институте.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор Г.Ф. ПУЧКОВ.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор Г.И. КРАВЦОВА.

Официальные оппоненты:

член-корреспондент Российской АМН и АН Беларуси,
доктор медицинских наук, профессор
Г.И. ЛАЗЮК,

доктор медицинских наук, профессор
М.М. ПЯТКЕВИЧ.

В е д у щ е е у ч р е ж д е н и е - Витебский медицинский институт.

Защита состоится 15 июля 1993 г. в 15.00 час.
на заседании Специализированного Совета К.077.01.04 по
защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата
медицинских наук при Минском ордена Трудового Красного
Знамени государственном медицинском институте / 220116,
г. Минск, пр-кт Дзержинского, 83 /.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
Минского ордена Трудового Красного Знамени государственного
медицинского института.

Автореферат разослан 28 мая 1993 г.

Учёный секретарь
Специализированного совета
доктор медицинских наук,
профессор

Г.И. КРАВЦОВА

Актуальность темы. Скоропостижная смерть (СПС) детей в неонатальном и раннем возрасте продолжает оставаться на высоком уровне во всех странах мира (В.И.Прозоровский, 1973; А.Р.Денъковский с соавт., А.Г.Талалаев, Г.А.Самсыгина, 1992) и является одной из недостаточно выясненных проблем в судебной медицине. Такая смерть наблюдается в 75,9 % случаях всех судебно-медицинских исследований погибших детей (Г.Ф.Пучков, 1976; А.А.Матышев с соавт., 1985; I.Kraus, N.Borhani, 1972).

Среди причин неинфекционной природы скоропостижной смерти детей, ведущее значение имеют поражения органов дыхания, обусловленные пневмониями новорожденных, клинически проявляющихся в синдроме дыхательных расстройств (А.И.Герасимович, 1985; Т.Е.Ивановская с соавт., 1986; А.П.Громов, А.В.Капустин, 1991). Причем из-за скудости патоморфологических изменений в органах дыхания диагностика причины смерти бывает затруднена (Г.К.Герсамя, 1989).

У умерших детей пневмонии проявляются ателектазами, болезнью гиалиновых мембран (БГМ), аспирацией околоплодных вод и содержимого родовых путей и другими, реже наблюдаемыми состояниями. Возможность проявления того или иного вида пневмонии во многом определяется состоянием сурфактантной системы легких (ССЛ) у новорожденных.

Необходимость изучения ССЛ у новорожденных основана на ее важной роли в нормальной функции легких, обеспечении стабильности легочных альвеол, особенно в период адаптации младенца к условиям внешней среды (В.В.Ерохин, 1973; Л.К.Романова с соавт., 1977; В.Х.Виктор, 1989; в.м.Scarpelli, 1986). Недостаточность функции ССЛ в патогенезе пневмонии у детей (Г.Ф.Пучков, 1976; А.А.Биркун с соавт., 1981) характеризуется снижением поверхностной активности сурфактанта или изменением количества и качества фосфолипидов, входящих в их состав (В.Ю.Горчаков, 1982; J.R.Wright, A.J.Clements, 1987).

У новорожденных, особенно у недоношенных, недостаточность ССЛ возможна из-за незрелости легочной ткани, обусловленной низким гестационным возрастом, а также в результате наличия какой-либо патологии матери.

Несмотря на значительное количество работ, посвященных

сурфактанту легких (Г.Ф.Пучков с соавт., 1974; А.А.Биркун с соавт., 1981; В.Е.Миллер, G.E.R.Hook, 1989; R.E.Barrow, 1990), состояние фосфолипидов сурфактанта и их жирно-кислотного состава при патологических состояниях легких изучено недостаточно. Вопросы, касающиеся характеристики сурфактантной системы у плодов и новорожденных в различные периоды перинатального развития, разработаны слабо и не являются результатом комплексных исследований. Известно, что незрелость этой системы играет важную роль в развитии пневмонии у новорожденных (Т.П.Мукова, М.Халлман, 1984; Н.В.Клейменова, 1986; P.M.Farrell, 1986). Данные о половых различиях в созревании ССЛ пока единичны. По существу отсутствуют работы, в которых изучалось бы состояние сурфактанта легких (СЛ) в зависимости от гистологических и ультраструктурных особенностей легких при различных видах пневмонии. Требуется уточнения состояние альвеолоцитов 2-го типа, с которыми связан синтез и секреция сурфактанта.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования явилось комплексное (с применением биохимических и электронно-микроскопических методов) изучение закономерностей изменения сурфактанта и продуцирующих его клеток (альвеолоцитов 2-го типа) у скоропостижно умерших детей неонатального возраста при различных видах пневмонии и установление биохимических критериев изменений СЛ в различные периоды пренатального развития новорожденных.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить нозологическую структуру и установить удельный вес каждого вида пневмонии у умерших детей неонатального возраста.

2. Параллельно с гистологическими изменениями в легких выявить особенности ультраструктуры сурфактантной системы легких и биохимического состава сурфактанта у умерших детей при различных видах пневмонии.

3. Установить изменения СЛ на различных периодах пренатального развития у новорожденных и оценить их с учетом пола.

4. Выявить особенности морфологических изменений в лег-

ких с применением морфометрии у младенцев, умерших от различных видов пневмонии.

5. Определить рациональные методы судебно-медицинской оценки состояния СЛ в случаях СЛС детей неонатального возраста.

Научная новизна работы. На основе проведенных исследований выявлена ведущая роль недостаточности СЛ. Современными методами количественного и качественного анализа сурфактанта установлено, что среди скоропостижно умерших от пневмонии детей неонатального возраста недостаточность поверхностно-активных свойств сурфактанта имеет ведущее патогенетическое значение.

Научно обоснован оптимальный комплекс методов, позволяющих получить количественную и качественную оценку состояния СЛ у скоропостижно умерших детей. Определена динамика изменений фосфолипидов СЛ и впервые получены данные о жирно-кислотном составе фосфатидилхолина при различных видах пневмонии.

Впервые определена динамика изменений фосфолипидов и жирно-кислотного состава фосфатидилхолина СЛ в различные периоды пренатального развития и показана связь этих изменений с уровнем морфологической зрелости ткани легкого. Выявлены половые различия в темпах созревания СЛ.

Получена сравнительная ультраструктурная характеристика элементов ССЛ (альвеолоцитов 2-го типа, сурфактантного альвеолярного слоя) при различных видах пневмонии и дисциркуляторной гипоксии (черепно-мозговая травма) и определено, что ультраструктурная организация ССЛ в этих случаях подвержена значительным нарушениям.

На основании ультраструктурно-биохимических данных установлено, что у новорожденных, умерших от различных видов пневмонии, решающее значение в патогенезе имеют следующие факторы: 1) внутриклеточное нарушение синтеза и секреции сурфактантного материала; 2) инактивация и разрушение слоев сформированного сурфактанта; 3) дистрофия и деструкция альвеолоцитов при расстройствах легочной микроциркуляции и аэрации.

В эксперименте на животных установлены посмертные измене-

ния качественного и количественного состава СЛ, которые в течение суток претерпевали изменения.

В работе, наряду с анализом собственного материала, суммированы данные отечественной и зарубежной литературы о частоте и факторах риска в возникновении пневмопатии, значении ССЛ в наступлении смерти от различных видов пневмопатии, роли морфологических исследований как показателя степени дыхательного расстройства.

Практическая ценность работы и пути ее реализации. Полученные данные могут быть широко использованы в судебно-медицинской и патологоанатомической практике для оценки роли ССЛ в пато- и танатогенезе пневмопатии у скоропостижно умерших детей неонатального возраста.

Примененный в работе электронно-микроскопический и биохимический методы исследования позволили установить морфологические и биохимические критерии нарушений ССЛ, которые могут быть рекомендованы для использования в судебно-медицинской и патологоанатомической практике, для правильной оценки изменений в легких новорожденных и установления причин смерти, а также для выяснения определенных звеньев патогенеза пневмопатии.

Данные о поверхностной активности сурфактанта экстрактов легких в различные периоды пренатального развития могут быть использованы в судебно-медицинской практике в качестве дополнительного параметра для решения вопроса о жизнеспособности младенца.

Разработан оригинальный метод, позволяющий интерпретировать морфометрические показатели, полученные в процессе светооптического исследования, в целях выявления преобладающих морфологических изменений в респираторной ткани и оценки функционального состояния дыхательного аппарата.

Основные положения, выносимые на публичную защиту:

1. БГМ занимает ведущее место в нозологической структуре пневмопатий как причина СПС детей неонатального периода.

2. Скоропостижность наступления смерти от различных видов пневмопатии у подавляющего большинства детей неонатального возраста объясняется морфофункциональной незрелостью легких, степенью выраженности морфологических изменений в респи-

раторных отделах, а также ультраструктурными изменениями альвеоцитов I-го и 2-го типа и биохимическим нарушением сурфактанта.

3. В процессе созревания легких уровень поверхностной активности сурфактанта легких возрастает по мере увеличения срока гестации и коррелирует с фракционным распределением в нем фосфолипидов и его жирно-кислотным составом.

4. У новорожденных женского пола процесс созревания системы сурфактанта происходит быстрее по сравнению с младенцами мужского пола.

5. Метод интеграции морфометрических показателей структуры респираторных отделов легких позволяет количественно оценить степень функционального нарушения дыхательного аппарата.

Апробация диссертации. Материалы диссертации доложены на заседаниях Минских городских обществ патологоанатомов (1992) и судебных медиков (1993); совместном заседании кафедр судебной медицины и патологической анатомии Минского государственного медицинского института (1993).

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 5 глав, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Работа изложена на 254 страницах машинописного текста (из них 60 страниц полностью заняты таблицами, рисунками и списком литературы), включает 55 таблиц и иллюстрирована 52 рисунками. Библиографический указатель содержит 135 названий отечественных источников и 149 - иностранных авторов.

Материал и методы исследования. Для решения поставленных задач провели изучение морфологических изменений в легких и состоянии СЛ у 81 умершего от дыхательной недостаточности плодов и новорожденных различного гестационного возраста в период с 1990 года по 1992 год. Причину смерти устанавливали на основании анализа клинических данных о течении беременности и родов, карт развития плодов и новорожденных, а также результатов патологоанатомического исследования. Во всех случаях обращали внимание на факторы, которые могли оказать влияние на состояние ССЛ при внутриутробном развитии плода. В подавляющем большинстве случаев непосредственной причиной смерти была асфик-

сия, которая была разделена на две группы: к первой группе отнесены 37 новорожденных, умерших от пневмонии; ко второй группе - 15 мертворожденных, погибших от внутриутробной асфиксии. Группой контроля служили 8 трупов детей, смерть которых не связана с патологией дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

Наряду с этим было проведено исследование состояния сурфактанта у 72 новорожденных в зависимости от различных сроков пренатального развития. В качестве контроля использовали группу из 9 детей, погибших от различных заболеваний в течение первого месяца жизни. Кроме того, работа включает экспериментальную часть, которая осуществлена на 31 беспородных белых крысах-самцах массой 262 - 274 г. Медико-статистическое исследование проводилось на основании изучения 237 актов исследования трупов детей, умерших в первые 168 часов жизни в г. Минске за 5 лет (1987 - 1991).

Доношенность и недоношенность определяли по данным истории родов, развития новорожденного и по общепринятым антропометрическим показателям. Мальчиков было 45, девочек - 36. В первые сутки жизни умерло 28 % всех исследуемых детей, во вторые - 23 %, на третьи сутки - 2,5 %, на четвертые - 5 %, на пятые - 1,2 %.

Материал для исследования брали по возможности раньше, но обычно не позднее 24 часов, а для электронной микроскопии - в первые 1,5 - 3 часа после наступления смерти.

Проводили полное судебно-медицинское исследование (экспертизу) трупов. Из нефиксированных легких вырезали участки ткани для гистологического исследования, электронной микроскопии и изучения поверхностной активности СЛ. Кусочки размерами по 1x1x1 см вырезали из каждой доли легкого для гистологического и морфометрического исследования. Кроме того, кусочки использовали для изучения поверхностно-активных свойств СЛ, а в определенных случаях и для электронной микроскопии.

В работе применены методы световой и электронной микроскопии. Для светооптического исследования секционный материал фиксировался в 10 % растворе нейтрального формалина. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эози-

ном. Основным объектом изучения служили легкие, которые окрашивали по Ван-Гизону и в части случаев проводили Шик-реакцию.

Для электронной микроскопии (16 случаев) из кусочков легочной ткани вырезали фрагменты размерами 1x1x1 мм, фиксировали их в 2,5 % растворе глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере с постфиксацией 1 %-ным раствором четырехоксида осмия на фосфатном буфере в течение одного часа. Ткань заключали в аралдит. Ультратонкие срезы толщиной 30-50 нм получали на ультратоме LKB-V8000, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали с помощью электронного микроскопа JEM -100 В.

Морфологию органов дыхания изучали с помощью гистостерометрического метода. Для этого были проведены морфометрические измерения на случайно выбранных полях зрения с использованием видеоизображения срезов легочной ткани в интерактивном режиме при постоянном увеличении в 200 раз. Определялись следующие параметры: 1) площадь просветов терминальных воздухоносных путей (ПА); 2) площадь гиалиновых мембран (ПГМ); 3) площадь аспирации околоплодных вод и содержимого родовых путей (ПАМ); 4) удельный вес площади гиалиновых мембран (%ПГМ); 5) удельный вес площади аспирации околоплодных вод и содержимого родовых путей (%ПАМ); 6) удельный вес площади патологического содержимого (%ПАС); 7) показатель площади нерасправленных альвеол на единицу площади легочной ткани (ПНА); 8) показатель площади расправленных альвеол на единицу площади легочной ткани (ПРА); 9) площадь легочной ткани (ПЛ); 10) степень распространения ателектаза (%СА); 11) периметр терминальных воздухоносных путей (РА); 12) периметр просветов терминальных воздухоносных путей (РП); 13) периметр гиалиновых мембран (РГМ); степень блокирования поверхности альвеол (%СБА).

Степень блокирования поверхности альвеол определяли путем соотношения линейного размера поверхности гиалиновой мембраны, соприкасающейся с альвеолярной стенкой (Рз), к общему периметру альвеолы. Для этого была определена Рз с помощью формулы:

$$P_z = \frac{PA - RP + PGM}{2}, \text{ где}$$

$$P_A = P_1 + P_3 ;$$

$$P_{II} = P_1 + P_2 ;$$

$$P_{IM} = P_2 + P_3 ;$$

P_1 – поверхность альвеолы, свободная от гиалиновой мембраны;

P_2 – наружная поверхность гиалиновой мембраны;

P_3 – внутренняя поверхность гиалиновой мембраны, соприкасающаяся с альвеолярной стенкой.

При проведении электронно-микроскопических исследований производили подсчет абсолютного количества осмиофильных пластинчатых телец (ОПТ) в альвеолоцитах 2-го типа. Кроме того, определяли объемную плотность осмиофильных телец в цитоплазме альвеолоцитов 2-го типа и выражали в процентном отношении.

Весь цифровой материал подвергнут вариационной статистической обработке. При этом вычислялись: значения среднеарифметических величин (m) и среднеквадратического отклонения (m), которые были получены на персональном компьютере "ЕС-18-41" с помощью программы, разработанной в Центральной научно-исследовательской лаборатории МГМ.

Параллельно были выполнены биохимические исследования фосфолипидов сурфактанта легочной ткани плодов и новорожденных. Для этого готовили 10 % водно-солевые экстракты из измельченной легочной ткани, которые подвергали дифференциальному центрифугированию в растворах натрия хлорида разной плотности (1,006 и 1,150 г/мл). Поверхностно-активная фракция флотировала над раствором плотностью 1,150 г/мл в виде пленки, которую в дальнейшем использовали для проведения биохимического анализа СЛ. Поверхностно-активную фракцию разделяли на липидный и белковый компоненты по методу Фолча. Фосфолипиды разделяли на фракции с помощью тонкослойной хроматографии на стеклянных пластинках, приготовленных с силикагелем "Сhemapol" (ЧССР). Идентификацию отдельных фракций фосфолипидов проводили после окрашивания 0,2 % спиртовым раствором флуоресцина в ультрафиолетовом свете в присутствии "свидетелей".

Для определения жирно-кислотного состава фосфатидилхолина (ФК) сурфактанта использовали общепринятые способы превращения жирных кислот в соответствующие им метиловые эфиры для проведения газохроматографического анализа с помощью газового хро-

матографа Chrom -5 (ЧССР) с ионизационно-пламенным детектором. Разделение жирных кислот осуществляли в стандартных стеклянных колонках, заполненных сорбентом Chromaton N-AW (0,160 - 0,200 мм). Количественный анализ каждой кислоты проводили сопоставляя параметры хроматографического пика стандарта и соответствующей анализируемой кислоты. Исследование биохимического состава СЛ было выполнено в лаборатории биохимических методов исследования Минского государственного медицинского института.

Полученные в работе биохимические данные обработаны методом вариационной статистики с вычислением критерия достоверности по Стьюденту. Математическая обработка выполнена с помощью микрокалькулятора "Casio-Fx -120".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Медико-статистический анализ 237 детей, умерших от пневмонии, выявил, что основной причиной смерти были болезнь гиалиновых мембран, ателектаз легких и синдром массивной аспирации, причем среди них наибольшее число наблюдений приходилось на болезнь гиалиновых мембран (80,2 %). Установлено, что на пневмонию, как причину смерти скорострительно умерших детей неонатального возраста, приходилось наибольшее число наблюдений (у недоношенных новорожденных – 92,1 %), чаще всего это младенцы, родившиеся с III степенью недоношенности (45,6 %). Причем пневмония преобладала среди новорожденных, родившихся с оценкой Апгар 4-6 баллов, от первых родов с тазовым предлежанием, многоплодной беременностью, с массой тела 1501-2000 г (34,6 %), проживших первые 48 часов (50,0 %), с гестационным возрастом 28-33 недели (68,4 %). У этих младенцев преимущественно наблюдалась дыхательная недостаточность тяжелой формы.

В наших исследованиях пневмония имела четкую сезонную зависимость. Высокая частота случаев пневмонии приходилась на весенний период (32,4 %), что совпадало с периодом подъема заболеваемости матерей. Среди мальчиков пневмония регистрировалась чаще (60,5 %), чем среди девочек.

Дети неонатального возраста, скорострительно умершие от пневмонии, имели определенную морфологическую картину в виде местных тканевых изменений на разных уровнях легких. При ателе-

лектатической, гиалиновой пневмопатии и в группе контроля ателектаз занимал соответственно 71,5 %, 68,5 %, 53,9 % общей площади респираторных отделов легкого.

Объявленная площадь гиалиновых мембран имеет прямую зависимость от вида пневмопатии. Этот показатель был наибольшим в группе гиалиновой пневмопатии (22,5 %) и значительно снижался при синдроме массивной аспирации (3,9 %) и в группе контроля (0,4 %).

При БГМ в зависимости от ее выраженности дыхательная линейная поверхность альвеол блокируется в пределах от 24 % до 82 %.

Изучение состояния сурфактантной системы легких новорожденных неонатального возраста при пневмопатиях, в особенности при аспирации околоплодных вод и содержимого родовых путей, ателектазе и болезни гиалиновых мембран, выявило отдельные морфологические и биохимические отличительные признаки.

В случаях аспирации как причины СПС в легких младенцев, по данным световой микроскопии, постоянно обнаруживались в респираторных отделах легких, средних и мелких бронхах аспирированные массы, а также небольшие очаги ателектаза; последние, по-видимому, можно рассматривать как объективный признак нарушения ССЛ. Изменения в ультраструктурной организации ССЛ проявлялись повышением электронно-оптической плотности гипофазы, дезорганизацией и нарушением целостности фосфолипидного слоя сурфактанта. Базальный слой разрыхлен, отечен, неравномерной толщины. Наряду с этим изменена структура альвеолоцитов 2-го типа, для которых характерно ядро неправильной формы со светлой кардиоплазмой и хроматином, расположенным в виде глыбок, преимущественно по периферии, светлая рыхлая цитоплазма с малочисленными органеллами, отечные митохондрии, расширенные цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулума (ШЭР), малое количество рибосом. Отмечается повреждение плазмалеммы во многих альвеолоцитах 2-го типа. Крупные осмиофильные пластинчатые тельца (ОПТ) представлены в вакуолизированном виде, в них не содержится осмиофильный материал, их число достигает 3-4 на одну клетку. Объемная плотность ОПТ составляет 13,7 %.

Результаты изучения поверхностной активности СЛ представлены в таблицах 1, 2. Полученные данные позволили установить, что у доношенных и недоношенных детей данной группы налицо до-

Содержание общих фосфолипидов, их фракций и жирнокислотного состава фосфатидилхолина в поверхностно-активной фракции экстрактов легочной ткани в зависимости от причин смерти (M ± m)
(в числителе - число доношенных, в знаменателе - недоношенных детей)

Причина смерти	Содержание фосфолипидов		Из них		Жирнокислотный состав фосфатидилхолина	
	Общие фосфолипиды, всего (ммоль/г)	Фосфатидилэтанолламина (%)	Фосфатидилхолина (%)	Фосфатидилсерина (%)	Насыщенные жирные кислоты (%)	Ненасыщенные жирные кислоты (%)
I. Черепно-мозговая травма	0,152±0,004	11,8±0,7	72,3±2,6	10,5±1,3	88,4±5,2	11,6±1,1
II. Внутритрурная асфиксия	0,152±0,004	16,4±0,6	68,4±2,6	15,1±1,5	86,5±4,8	13,5±1,8
III. Синдром массивной аспирации	0,111±0,006	13,2±0,9	67,2±2,7	19,4±1,7	86,3±3,2	13,7±1,7
IV. Ателектаз	0,091±0,005	18,7±1,6	60,4±3,8	19,8±2,1	85,3±6,1	14,7±3,5
V. Болезнь гиалиновых мембран	0,085±0,003	18,0±2,1	60,0±3,5	17,5±1,3	84,5±7,8	15,4±2,7
VI. Контроль	0,071±0,005	22,4±2,8	56,0±3,3	21,0±1,4	82,6±6,8	17,2±2,5
VII. Ателектаз	0,056±0,004	25,0±1,7	50,0±5,3	23,2±1,7	80,7±4,9	19,3±1,7
VIII. Болезнь гиалиновых мембран	0,050±0,004	18,0±1,0	54,0±8,0	22,0±2,0	81,1±8,8	18,2±4,2
IX. Контроль	0,033±0,003	27,3±0,9	45,0±6,0	24,3±0,6	79,2±7,1	20,3±2,3

Примечание: Все показатели по сравнению с контролем достоверны (от P < 0,05 до

P < 0,001), за исключением фосфатидилэтанолламина у доношенных III, сфингомиелина у доношенных III и у недоношенных II, ненасыщенных жирных кислот у доношенных и недоношенных II, у недоношенных III и IV (P > 0,05).

Содержание общих фосфолипидов, их фракций и жирнокислотного состава фосфатидилхолина в поверхностно-активной фракции экстрактов легочной ткани на различных периодах внутриутробного развития ($M \pm m$)

Группа наблюдений (сроки гестации) недели	Содержание фосфолипидов				Жирнокислотный состав фосфатидилхолина	
	Общие фосфолипиды, всего (ммоль/г)	Из них		Насыщенные жирные кислоты (%)	Ненасыщенные жирные кислоты (%)	
		Фосфатидилэтанол-ламина (%)	Фосфатидилхолин (%)			
I. (24 - 29)	21 0,078±0,004	23,4±1,2	47,1±3,5	29,5±6,0	183,5±35,3	73,4±18,5
II. (30 - 37)	32 0,080±0,005	18,5±2,5	55,5±6,2	21,5±3,7	621,6±72,6	219,1±38,7
III. (38 - 42)	19 0,117±0,004	18,8±1,4	64,9±1,7	16,2±1,7	1913,5±239,3	590,5±68,8
IV. (Контроль)	9 0,183±0,010	17,3±0,5	76,5±3,2	6,0±1,0	1331,0±377,9	678,7±197,8

Примечание: Все показатели по сравнению с контролем достоверны (от $P < 0,05$ до $P < 0,001$), за исключением показателей жирнокислотного состава фосфатидилхолина III ($P > 0,005$).

стоек снижение уровня содержания общих фосфолипидов ($0,085 \pm 0,003$ ммоль/г и $0,071 \pm 0,005$ ммоль/г) и процентного содержания фосфатидилхолина ($60,0 \pm 3,5$ % и $56,0 \pm 3,3$ %), что сопровождалось снижением в составе последнего насыщенных жирных кислот ($84,5 \pm 7,8$ % и $82,6 \pm 6,8$ %) и повышением процентного содержания ненасыщенных жирных кислот ($15,4 \pm 2,7$ % и $17,2 \pm 2,5$ %). Параллельно отмечалось возрастание процентного содержания малоактивных фракций фосфатидилэтанолламина ($18,0 \pm 2,1$ % и $22,4 \pm 2,8$ %) и сфингомиелина ($17,5 \pm 1,3$ % и $21,0 \pm 1,4$ %), что указывает на деградацию сурфактанта. Вместе с тем, у детей, умерших от аспирации спустя 19 часов, выявлено достоверное повышение уровня показателей поверхностной активности СЛ (общие фосфолипиды - $0,094 \pm 0,005$ ммоль/г). Несмотря на это их уровень не достигает параметров контрольной группы. Можно полагать, что инактивация слоя сурфактанта, находящегося на поверхности альвеолярного эпителия, создает компенсаторную реакцию на усиление продукции сурфактанта неповрежденными альвеолоцитами 2-го типа, что обуславливает увеличение его количества в легких.

Легкие детей, которые погибли от ателектаза после рождения, отличаются нахождением в них основной массы альвеол в резко спавшемся состоянии. Межалвеолярные перегородки широкие, альвеолярные полости имеют неправильную или вытянутую форму. Кроме этого, наблюдались признаки структурной незрелости легких. При электронно-микроскопическом исследовании обнаруживались более значительные дистрофические изменения клеточных элементов респираторной ткани. Во многих альвеоцитах 2-го типа значительно изменены органеллы. Митохондрии имели признаки набухания с разрушением и лизисом крист. ШЭР расширен. Количество свободных рибосом мало. ОПТ представлены как в вакуолизированном виде, так и в незрелом состоянии (в упакованном виде со слабым осмиофильным материалом), их число в среднем достигает 3 на одну клетку, хотя в некоторых альвеолоцитах их количество варьирует от 4-х до 6-ти. На долю ОПТ приходится 9,6 % объемной плотности цитоплазмы альвеолоцитов 2-го типа. Аэрогематический барьер сформирован. На поверхности клеток гипофаза с пониженной электронной плотностью, практически не отмечается, а фосфолипидный слой сурфактанта отсутствует.

Биохимическое исследование состава фосфолипидов поверх-

ностно-активной фракции легочной ткани недоношенных новорожденных, погибших от ателектаза, выявило достоверное снижение уровня содержания общих фосфолипидов ($0,056 \pm 0,004$ ммоль/г) и высокоактивной фракции фосфатидилхолина ($50,0 \pm 5,3$ %) со снижением в составе последнего насыщенных жирных кислот ($80,7 \pm 4,9$ %), и повышение содержания малоактивных фракций, таких как фосфатидилэтаноламин ($25,0 \pm 1,7$ %) и сфингомиелин ($23,2 \pm 1,7$ %), еще больше, чем у детей, погибших от массивной аспирации и контрольной группы. Это, очевидно, обусловлено как незрелостью ССЛ, так и деградацией сурфактанта. Наряду с этим, у младенцев, пребывавших в гипоксическом состоянии длительное время (больше 17 часов), уровень показателей поверхностной активности (общие фосфолипиды - $0,076 \pm 0,005$ ммоль/г) сурфактанта увеличился в 1,5 раза в сравнении с общей группой (ателектаз), но не достиг уровня этих же параметров в контрольной группе. Все это указывает на ход компенсаторных процессов, восстановление воздушности ателектазированного легкого, что коррелирует с полученными данными при электронно-микроскопическом исследовании.

Сопоставляя все изученные виды пневмонии, следует подчеркнуть, что среди них изменения ССЛ у детей, умерших от БГМ, вызвали более выраженные морфологические и биохимические поражения. При микроскопическом исследовании легких видно, что в просветах большинства расправленных альвеол, альвеолярных ходов и респираторных бронхиол располагаются гиалиновые мембраны, которые плотно соприкасаются со стенками альвеол. Наряду с гиалиновыми мембранами, в легких обнаруживалось капиллярное и венозное полнокровие, отек легочной ткани. Образование гиалиновых мембран не выше уровня респираторных бронхиол косвенно подтверждает их патогенетическую связь с нарушением сформированного сурфактанта.

При электронной микроскопии в альвеолоцитах 2-го типа из-за распада хроматина наблюдаются ядра с пониженной электронной плотностью. ШЭР нарушен. Митохондрии набухшие, срединированным кристами и просветленным матриксом. При изменениях ультраструктуры митохондрий, что указывает на нарушение клеточной энергетики, в альвеолоцитах 2-го типа появляются фрагментированные ОПТ маленьких размеров, которые располагаются в электронно-прозрачных зонах; осмиофильный материал плотно упа-

кован. В отдельных альвеолоцитах 2-го типа имеются единичные осмиофильные включения. Среднее количество ОПТ достигает 2-3 на одку клетку; на их долю приходится 4,1 % объемной плотности цитоплазмы. Наряду с этим отмечаются изменения эндотелия капилляров и аэрогематического барьера.

Тем самым, в легких детей обнаруживается преимущественно утолщение гиофазы и образование гиалиновых мембран, которые формируют дополнительный барьер на уровне воздух-кровь, а также нарушение целостности сурфактанта и отсутствие признаков секреции ОПТ альвеолярными клетками 2-го типа.

Биохимические исследования показывают, что у доношенных и недоношенных детей этой группы еще более резко снижены параметры активности сурфактанта. На это указывает уровень содержания общих фосфолипидов ($0,050 \pm 0,004$ ммоль/г и $0,033 \pm 0,003$ ммоль/г) и фосфатидилхолина ($54,0 \pm 8,0$ % и $45,0 \pm 6,0$ %), в составе которого снизился уровень содержания насыщенных жирных кислот ($81,1 \pm 8,8$ % и $79,2 \pm 7,1$ %). Вместе с тем отмечается увеличение фракции фосфатидилэтаноламина ($18,0 \pm 1,0$ % и $27,3 \pm 0,9$ %) и сфингомиелина ($22,0 \pm 2,0$ % и $24,3 \pm 0,6$ %) в сравнении с контрольной группой.

При исследовании состояния сурфактанта в зависимости от длительности течения БГМ выявлено, что у младенцев, умерших спустя сутки жизни, уровень показателей активности сурфактанта был более высоким, в сравнении с детьми, погибшими в течение первых суток.

При СПС, обусловленной пневмониями, изменение состояния ССЛ мы сопоставляли с состоянием его в легких плодов, умерших от внутриутробной асфиксии и с неизменными легкими младенцев, погибших от черепно-мозговой травмы. У последних развивалась дисциркуляторная гипоксия, изменения в респираторных отделах легких характеризовались резкими гемодинамическими нарушениями. На этом фоне, при существовании у детей синдрома дыхательной недостаточности, выявлялась деструкция сформированного сурфактантного слоя. Нарушение аэрации и кровообращения действуют не только на поверхностно-активный слой, но и на клеточные элементы ССЛ. Альвеолоциты 2-го типа имеют ядро с равномерным распределением хроматина. В цитоплазме встречаются многочисленные митохондрии. ШЭР хорошо развит, на поверхности его цистерн распо-

лагается большое количество рибосом. Среднее количество ОПГ составляет 5-6 на одну клетку. На долю ОПГ приходится 20,7 % объемной плотности цитоплазмы клеток 2-го типа. Биохимический анализ легочной ткани показал высокое содержание общих фосфолипидов ($0,152 \pm 0,004$ ммоль/г) и фосфатидилхолина ($72,3 \pm 2,6$ % и $68,4 \pm 2,6$ %), что сопровождалось высокой степенью насыщенности последнего у доношенных и у недоношенных детей соответственно. Наряду с этим отмечалось снижение малоактивных фракций - фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина. Уровень показателей активности сурфактанта в данной группе младенцев ниже в сравнении с детьми, прожившими от 19 до 30 суток. Все это указывает на нарушения и повышения деградации сурфактанта в сформированной ССЛ.

В группе плодов, умерших от внутриутробной асфиксии, по данным световой микроскопии дыхательные расстройства были обусловлены сочетанием недостаточной зрелости альвеолярных структур и нарушением микроциркуляции, что непосредственно связано со сроком внутриутробного развития. Нарушения в ССЛ проявлялись наличием обширных участков дистелектаза и ателектаза. Биохимические исследования показали, что в легких этих плодов сохранился большое абсолютное количество общих фосфолипидов и высокое процентное содержание фосфатидилхолина, который мало отличается по качественному составу (степенью насыщенности) от контрольной группы. Кроме того, имеется заметное увеличение процентного содержания малоактивных фракций фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина.

В итоге, для легких данной группы характерно снижение параметров активности сурфактанта в сравнении с группой черепно-мозговой травмы, но они остаются более высоким, нежели в группах с различными пневмопатиями. Эти данные указывают на деградацию сурфактанта, вероятно, поврежденного при внутриутробной гипоксии плода.

Результаты гистологического исследования показали, что в срок 24-29 недель гестации структура легочной ткани характеризуется сравнительно небольшим числом альвеол, уплощенным эпителием респираторных отделов, широкими соединительнотканными перегородками и узкими артериолами. Вместе с тем, наличие участков дистелектаза и ателектаза отражает незавершение процесса

созревания ССЛ.

СЛ плодов этой группы обладает низкой поверхностной активностью. На это указывает низкий уровень содержания общих фосфолипидов ($0,078 \pm 0,004$ ммоль/г) с низкой долей наиболее активного в поверхностно-активном отношении фосфатидилхолина ($47,1 \pm 3,5$ %) и большой долей малоактивных фракций фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина (которые в сумме составляют $52,9 \pm 7,2$ ммоль/г) в составе фосфолипидов СЛ. Наряду с этим, жирнокислотный состав фосфатидилхолина имеет низкий уровень содержания насыщенных ($183,3 \pm 35,3$ нмоль/г) и ненасыщенных ($78,4 \pm 18,5$ нмоль/г) жирных кислот. В то же время у доношенных новорожденных, вошедших в контрольную группу, поверхностно-активные свойства легочной ткани характеризуются высокими показателями: уровень содержания фосфолипидов достигает $0,183 \pm 0,010$ ммоль/г, фосфатидилхолина - $76,5 \pm 3,2$ %, фосфатидилэтаноламина - $17,3 \pm 0,5$ % и сфингомиелина $6,0 \pm 1,0$ %, а жирнокислотный состав фосфатидилхолина СЛ характеризуется высоким уровнем содержания насыщенных ($1331,0 \pm 337,9$ нмоль/г) и ненасыщенных ($673,7 \pm 197,8$ нмоль/г) жирных кислот. Таким образом, в легких плодов со сроком гестации до 29 недель ССЛ, ответственная за поддержание стабильности легочных альвеол, еще не обладает достаточной поверхностной активностью и не выполняет свои функции в условиях активного дыхания.

В период 30-37 недель гестации в основном заканчивается формирование ацинусов, в которых различимы терминальные и респираторные мешочки. Постепенно увеличивается число и глубина альвеол, продолжается уплощение эпителия и развитие капиллярной сети в межальвеолярных перегородках. Результаты биохимического исследования отражают продолжение созревания ССЛ, на что указывает увеличение уровня содержания фосфолипидов поверхностно-активной фракции ($0,080 \pm 0,005$ ммоль/г), в составе которой продолжает расти доля фосфатидилхолина ($55,1 \pm 3,5$ %) при одновременном снижении доли фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина (в сумме составляют $40,0 \pm 6,2$ %). В соответствии с этим удельный вес насыщенных ($621,6 \pm 72,6$ нмоль/г) и ненасыщенных ($219,1 \pm 38,7$ нмоль/г) кислот в жирнокислотном составе фосфатидилхолина повысился. Однако, несмотря на относительно высокую поверхностную активность СЛ в этот период, процесс формирования ССЛ нель-

зя считать завершенным, поскольку выделенная из экстрактов легких поверхностно-активная фракция еще не обладает достаточно высокими качествами для обеспечения своих функций.

У доношенных мертворожденных и новорожденных детей на 38-41 неделе гестации все отделы дыхательных путей сформированы. Дальнейший процесс совершенствования ССЛ происходит параллельно с дифференцировкой и васкуляризацией респираторных отделов. Биохимическое исследование экстрактов легочной ткани показало, что уровень содержания фосфолипидов достигает $0,117 \pm 0,004$ ммоль/г, что в 1,6 раза выше, чем в период 24-29 недель гестации ($P < 0,001$); в составе фосфолипидов $64,9 \pm 1,7$ % приходится на долю фосфатидилхолина, $18,8 \pm 1,4$ % на долю фосфатидилэтанолamina и $16,2 \pm 1,7$ % - на долю сфингомиелина. Количественный анализ жирнокислотного состава фосфатидилхолина показал, что насыщенные жирные кислоты занимали наибольший удельный вес и составляли $1913 \pm 293,3$ нмоль/г, что в 10 раз выше, чем в первой группе; на долю ненасыщенных жирных кислот приходится $590,3 \pm 293,3$ нмоль/г.

Результаты наших исследований совпадают с данными других авторов (Le Fuc Cat, 1988; А.А.Биркун с соавт., 1990; P.M.Fargell, 1982) о наличии корреляционной связи между содержанием общих фосфолипидов и фосфатидилхолином экстрактов легких, с одной стороны, и уровнем содержания насыщенных и ненасыщенных жирных кислот фосфатидилхолина - с другой. С увеличением срока гестации при повышении уровня содержания общих фосфолипидов и фосфатидилхолина (сопровождается увеличением насыщенных жирных кислот в его составе) в СЛ отмечается уменьшение малоактивных фракций, а следовательно, и повышение поверхностной активности СЛ.

Проведенный нами анализ состояния поверхностной активности СЛ у новорожденных в зависимости от их пола показал, что уже на ранних стадиях формирования (24-29 недель гестации) поверхностная активность у плодов женского пола выше, чем у плодов мужского пола. В более поздние сроки это различие имеет тенденцию нивелироваться, но тем не менее продолжает достоверно отличаться ($P < 0,02$). Более высокая поверхностная активность СЛ у плодов и новорожденных женского пола обеспечивается более высоким уровнем содержания фосфолипидов. Причем уровень содер-

жания фосфолипидов СЛ у плодов мужского пола на 38-42-ой неделях пренатального периода ($0,095 \pm 0,01$ ммоль/г) достигает уровня плодов женского пола уже на 30-37-й неделях внутриутробного развития ($0,094 \pm 0,01$ ммоль/г). Жирно-кислотный состав фосфатидилхолина СЛ в период с 24-й по 37-ю недели гестации у плодов и новорожденных мужского и женского пола почти одинаков. На 38-42 неделях внутриутробного развития наблюдалось достоверное ($P < 0,001$) различие между уровнем содержания жирных кислот фосфатидилхолина у младенцев женского и мужского пола. Причем в этот период степень насыщенности фосфатидилхолина у детей мужского пола была почти в 2 раза меньше, чем у младенцев женского пола. Таким образом, более высокая поверхностная активность СЛ у плодов и новорожденных женского пола является следствием не только высокого содержания общих фосфолипидов, но и более высокого уровня содержания насыщенных жирных кислот в составе фосфатидилхолина, обеспечивающих высокую активность последнего.

Далее нами исследованы посмертные изменения фосфолипидов и жирно-кислотного состава фосфатидилхолина СЛ в эксперименте на животных. Установлено, что уровень содержания фосфолипидов, особенно их высокоактивной фракции фосфатидилхолина и жирнокислотного состава последнего, в течение первых 24-х часов после смерти колеблется незначительно. Это позволило нам проводить исследования СЛ на секционном материале именно в течение первых суток.

Проведенное исследование органов дыхательной системы у скоропостижно умерших от различных видов пневмопатии детей неонатального возраста позволило считать, что при массивной аспирации околоплодные воды и содержимое родовых путей смывали либо растворяли сформированную фосфолипидную пленку сурфактанта с поверхности альвеол. У младенцев, умерших от ателектатической пневмопатии, постнатальная асфиксия была связана с глубокой незрелостью легочной ткани, выразившейся в первую очередь в недостаточном развитии структуры аэрогематического барьера и сформированном, но нестойком, слое сурфактанта. В условиях постнатальной асфиксии в легких детей, погибших от БГМ, отмечалось уплотнение слоя гиофазы, его пропитывание плазмой крови и фибрином, в результате чего внеклеточные эле-

менты ССЛ оказывались задействованными в формировании гиалиновых мембран. Нельзя исключить и того, что у младенцев данных групп резкая задержка развития и деструктивные изменения в легких также могут быть объяснены влиянием внутриутробной гипоксии. В легких новорожденных с дисциркуляторной гипоксией при черепно-мозговой травме альвеолярный сурфактант нарушается вторично, подвергаясь воздействию плазмы и форменных элементов крови; кроме того, гипоксия, возникающая в условиях нарушения кровообращения и аэрации, снижает внутриклеточный синтез сурфактанта.

В наших наблюдениях к моменту рождения доношенного ребенка можно считать, что ССЛ в основном сформирована, но процесс формирования полностью не завершен. Морфо-биохимический анализ наблюдений к 30-37-й, особенно к 38-41-й неделям гестации, показал, что в части случаев имело место заметное запаздывание процесса созревания легких. Морфологически это выражалось в отставании дифференцировки легочной ткани, что привело к биохимической незрелости, которая характеризовалась низкой поверхностной активностью СЛ.

Таким образом, согласно полученным результатам, состояние ССЛ различается в зависимости от различных видов пневмопатии или степени внутриутробного развития респираторных элементов легких новорожденных.

ВЫВОДЫ

1. Среди причин неинфекционной природы скоростигной смерти детей ведущее значение имеют поражения органов дыхания, проявляющиеся пневмопатиями по убывающей частоте: БГМ (80,2%), ателектаз (11,4%) и массивная аспирация (8,9%).

2. Каждый вид пневмопатии сопровождается особой ультраструктурной характеристикой. При массивной аспирации фосфолипидная пленка сурфактанта на поверхности альвеол частично смывается либо растворяется. Ателектаз сопровождается недостаточностью развития структуры аэрогематического барьера, нестойким слоем сурфактанта и нарушением синтеза и секреции сурфактантного материала. Гиалиновые мембраны формируются за счет уплот-

нения слоя гиофазы и неклеточных элементов ССЛ. При всех видах пневмопатий в альвеолах наблюдаются дистрофические и деструктивные изменения, которые в большей степени выражены у детей с БГМ.

3. Биохимические исследования экстрактов легких показывают, что низкая активность и угнетение синтеза сурфактанта преобладает у новорожденных, умерших от БГМ, и в меньшей мере отмечаются при аспирации и ателектазе.

4. Развитие респираторных отделов и капиллярной сети происходит параллельно с формированием ССЛ. Морфофункциональная незрелость легких, обусловленная укорочением срока гестации или задержкой процесса внутриутробного развития, наряду с гистологическими признаками, включает незрелость сурфактанта.

5. Процессы синтеза сурфактанта осуществляются в каналькулярную стадию развития легких с 24-ой недели гестации. Легкие плода обладают низкой поверхностной активностью. На это указывает низкий уровень содержания общих фосфолипидов сурфактанта ($0,078 \pm 0,004$ ммоль/г), в составе которых наиболее активная фракция фосфатидилхолина обладает низкой степенью насыщенности и составляет лишь 47,1 \pm 3,5%.

6. В процессе созревания легких повышение уровня содержания общих фосфолипидов и фосфатидилхолина, при одновременном увеличении степени насыщенности последнего, сопровождается снижением уровня фосфатидилэтаноламина, сфингомиелина и увеличением поверхностной активности сурфактанта.

7. Имеются определенные половые различия в процессе созревания ССЛ: у новорожденных женского пола этот процесс происходит быстрее, чем у младенцев мужского пола.

8. У скоростигно умерших от пневмопатии детей неонатального возраста, гистостереометрические измерения позволяют определить в воздухоносных путях различное патологическое содержимое (аспирированные околоплодные воды, гиалиновые мембраны), что дает возможность судить о степени воздушности легких, нарушении газообмена, проницаемости капилляров и аспирации.

9. Для получения наиболее полной информации о состоянии ССЛ у скоростигно умерших детей, наряду с классическим морфологическим исследованием, необходимо включать биохимическое (количественный и качественный анализ фосфолипидов и их жирно-

кислотного состава СЛ) и электронно-микроскопическое (ультраструктурное изучение клеточных и неклеточных элементов ССЛ) исследования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В патогенезе и танатогенезе пневмопатии у скоропостижно умерших детей неонатального возраста ведущую роль играет биохимическое состояние фосфолипидного и жирно-кислотного состава сурфактанта, ультраструктурное состояние поверхностной фосфолипидной пленки и гидрофазы сурфактантного комплекса, количество и качество ОПТ, митохондрий и ШЭР в альвеолах 2-го типа.

2. В качестве критерия жизнеспособности младенца рекомендуется использовать данные о состоянии показателей (общие фосфолипиды и их фракционное распределение) поверхностной активности сурфактанта экстрактов легочной ткани в различные периоды пренатального развития.

3. Ультраструктура ССЛ у детей может быть достоверно охарактеризована при использовании материала ранних вскрытий с фиксацией ткани не позднее трех часов после прекращения кровообращения.

4. Наиболее информативными морфометрическими показателями для установления степени нарушения газообмена в легких при БГМ являются $\%СНГО$, РА, РП, РГМ, РЗ.

5. Для уточнения нозологической формы асфиксии, как основной причины смерти в неясных случаях, при экспертизе трупов новорожденных, существенное значение имеют гистостереометрические параметры.

Научные работы, опубликованные по теме диссертации:

1. Валладарес Валлехос Абад, Пучков Г.Ф., Доморацкая Т.Л. Возможность посмертной оценки состояния сурфактанта альвеол. // I Бел. съезд патологоанатомов и судебных медиков: Тез. докл. - Витебск, 1990. - с.209-211.

2. Валладарес Валлехос Абад. Морфологическая характеристика гиалиновой пневмопатии. // I Бел. съезд патологоанатомов и судебных медиков: Тез. докл. - Витебск, 1990. - с. 211 - 212.

Валладарес

Подписано к печати 26.05.93 формат 60 x 84/16

Бумага № I. объем 2. о п. л.

Тираж 100 экз. заказ № 261.

Отпечатано на ротапринте Белорусского государственного университета.

220080. г. Минск.