Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА ИМЕНИ АКАДЕМИКА А.П. АВЦЫНА»

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России

На правах рукописи

ТИМОФЕЕВ Сергей Евгеньевич

О МОРФОГЕНЕЗЕ АТЕЛЕКТАЗОВ ПРИ РАДИОИНДУЦИРОВАННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЛЕГКИХ (клинико-экспериментальное исследование)

3.3.2 - Патологическая анатомия

Диссертация

на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук Ю.А. Кириллов

Москва, 2021

оглавление

В В Е Д Е Н И Е
Глава 1. АТЕЛЕКТАЗ ЛЁГКОГО, ВОПРОСЫ КЛАССИФИКАЦИИ, ЭТИОЛОГИИ, ПАТО- И МОРФОГЕНЕЗА (обзор литературы)15
1.1.Дефиниции и классификации ателектазов лёгкого, особенности их
возникновения, развития и морфологические проявления 15
1.2.Морфологические особенности ателектазов легкого, реализующихся при
воздействии ионизирующего излучения
1.3.Использование рамановской спектроскопии для диагностики
заболеваний и патологических состояний
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
2.1. Характеристика экспериментального и клинического материала 37
2.1.1. Описание использованных в опытах экспериментальных (лабораторных) животных
2.1.2. Морфологические особенности секционного материала
2.2. Реализация радиационно-индуцированного повреждения легких в
клинике и эксперименте40
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте40
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
 2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
 2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
 2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте
2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте

3.1 Морфогенез ателектазов при радиоиндуцированном повреждении
легких в эксперименте57
3.1.1. Формирование инициальных (фоновых) предателектатических изменений легочной ткани (1-3 сутки опыта)
3.1.2. Реализация лучевых альтераций в субплевральных отделах легкого, формирование субплевральных, преимущественно монофакторных, ателектазов (4 – 7 сутки опыта)63
3.1.3 Реализация лучевых альтераций в интрапульмонарных отделах легкого, формирование интрапульмонарных, преимущественно мультифакторных, ателектазов (8-14 сутки опыта)
3.1.4. Персистенция и трансформация структурных изменений в лёгких, формирование векторов эволюции ателектазов
3.1.5. Формирование фиброателектазов, восстановление воздушности лёгочной ткани
3.2. Морфологические особенности ателектазов легких при лучевом
воздействии на грудную клетку при лечении РМЖ (клинические
наблюдения) 101
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 114
ВЫВОДЫ
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ129
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ 130
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 132
ПРИЛОЖЕНИЯ

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Ателектаз лёгкого принадлежит к важнейшим, но до сего времени относительно мало изученным проявлениям патологии органов дыхания, традиционно доминирующей в структуре наиболее распространенных заболеваний человека. При этом значение ателектаза лёгких для понимания существа возникновения и прогрессирования лёгочной патологии чрезвычайно велико. Большинство исследователей патоморфологов и практикующих врачей других специальностей признают серьёзность этой проблемы. Однако, на практике обычно всё и ограничивается осознанием важности этого обстоятельства. Исключение составляют фтизиопульмонология, хирургия и травматология, где ателектаз лёгких при реализации становится серьёзным осложнением предсуществующей лёгочной патологии, либо возникает рефлекторно при операциях на органах внутригрудной, внутрибрюшной локализаций или в раннем послеоперационном периоде [141]. В отечественной медицине последние серьёзные фундаментальные исследования, касающиеся изучения ателектазов лёгких, относятся к 70 – 80 годам прошлого века [34, 40, 42]. На это же время приходится и пик публикационной активности по данной проблеме [6, 23, 26]. Даже в современных руководствах по пульмонологии и патологической анатомии лёгких ателектазу посвящено в лучшем случае однадве страницы [38, 39]. Вместе с тем, количество регистрируемых в последнее время ателектазов лёгкого не только не уменьшилось, но приобрело устойчивую тенденцию к увеличению [59, 135, 136].

Причины развития ателектаза легких достаточно широки, начиная от травматического повреждения грудной клетки, последствий расширенных операций на легких, вирусных пневмоний, ожогов поверхности тела, ингаляционной травмы, общего наркоза, обтурации бронха и различных экзогенных воздействий, включая химическое или лучевое поражение легких. В последнее время, благодаря широкому использованию лучевого воздействия в качестве лечения пациентов, страдающих метода злокачественными новообразованиями грудной и внутригрудной локализаций, в том числе раком молочной железы (РМЖ), включенному в клинические рекомендации ведения пациентов с данной патологией [18, 19, 20, 21], несколько увеличилась частота возникновения ателектазов легких [117]. Данные клинических наблюдений свидетельствуют, что примерно в трети случаев после лучевой терапии могут появиться ателектазы или иные признаки лёгочной патологии [115, 157, 181]. В руководствах по пульмонологии и патологической анатомии человека в разделе, посвященном морфологии и патогенезу ателектаза, выделяют обтурационный, компрессионный и неврогенный ателектазы [39]. Исследования последних лет, безоговорочно признавая доминирующую роль обструкции и/или существенного лимитирования просвета воздухопроводящих путей в формировании ателектазов, тем не менее, констатируют, во-первых, наличие значительно большего числа факторов, влияющих на пато- и морфогенез ателектазов и, во-вторых, их безусловную сопряженность и реализацию в различные временные периоды [18, 108]. В то же время незначительное количество работ по моделированию в эксперименте затрудняет понимание и оценку начальных ателектазов инициальных изменений легочной ткани, составляющих существо первых звеньев морфогенеза ателектаза. Отсюда актуальной задачей представляется и выделение конкретных механизмов альтерации, лежащих в основе возникновения и реализации ателектазов [13]. В отличие от клинических наблюдений, при которых прижизненная морфологическая диагностика ателектазов, как правило, не представляется возможной, а исследование секционного материала в большинстве случаев делает крайне затруднительным использование прецизионных методов изучения биологических объектов, включая электронномикроскопическое исследование материала, экспериментальные модели позволяют изучить и описать морфогенез данной патологии полностью, начиная со стадии инициальных повреждений и заканчивая разрешением ателектаза, либо фиброзированием легкого [129, 57]. Помимо этого, актуальной является и проблема разработки и использования новых методов, технологий и лекарственных средств профилактики

и лечения ателектазов лёгкого. Так, в частности, существует ряд препаратов, одним из механизмов действия которых является влияние на альвеолоциты II типа, выражающееся в стимулировании выработки ими сурфактанта, что может привести к существенному снижению числа ателектазов и дистелектазов [161, 205].

Анализ морфогенеза ателектазов и возможностей его коррекции и/или модификации в настоящее время является более перспективным, нежели ранее, поскольку В распоряжении исследователей имеются гистохимические, иммуногистохимические, электронно-микроскопические, морфометрические и иные прецизионные методы, применение которых способствует более полному раскрытию существа данной патологии. Все это позволяет проводить исследование патологической морфологии легких при ателектазах на новом уровне и является гарантом того, что правильно спланированное и хорошо обеспеченное в методическом отношении исследование может завершиться получением результатов, перспективных как в теоретическом, так и практическом отношениях.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время установленными и достаточно изученными можно считать основные причины, предшествующие факторы И условия, при неблагоприятном сочетании которых могут возникнуть ателектазы легких. В немногочисленных исследованиях содержатся сведения о промежуточных и заключительных фазах морфогенеза ателектаза, после завершения которых ателектаз либо разрешается с восстановлением воздушности легкого в той или иной степени, либо переходит в хроническую стадию с трансформацией в фиброателектаз и склерозирование ткани лёгкого. Что касается начальных этапов морфогенеза ателектаза, то есть периоде, когда большинство возникающих общепатологических процессов, включая повреждение И расстройства кровообращения, обратимы и возможна реституция легочной ткани, то они представляют собой своеобразную «terra incognita» [46, 85, 111]. Всё это в полной

мере характерно ателектазов, возникающих результате И для В радиоиндуцированного воздействия на ткань легкого [16]. Появившиеся в последнее время предположения о роли оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции в возникновении и развитии ателектазов, как правило, не подкреплены морфологическими доказательствами [126, 102, 187]. Для терапии начальной морфологическими стадии ателектаза, проявлениями которой являются обусловленные гипоксией интерстициальный и внутриальвеолярный отеки разной степени выраженности, используют антиэкссудативные средства И глюкокортикоиды [1, 55, 182]. В то же время специфика радиационного повреждения легких диктует необходимость использования медикаментов, обладающих антиоксидантным, радиопротективным антифибротическим И эффектами [93, 114, 124, 138].

Цель исследования: выявить особенности морфогенеза ателектазов, развивающихся в лёгких при действии ионизирующего излучения на грудную клетку в комплексном лечении рака молочной железы и при экспериментальном радиоиндуцированном повреждении.

Задачи исследования:

1. Изучить в эксперименте динамику структурных нарушений в лёгких, а также суммарного содержания и качественного состава фосфолипидов легочного сурфактанта при ателектазах, возникающих вследствие однократного локального рентгеновского облучения.

2. Установить морфологические особенности и морфогенез ателектазов лёгких, возникающих при воздействии ионизирующего γ-излучения на грудную клетку пациентов, страдающих раком молочной железы.

3. Оценить возможность использования раман-спектроскопического исследования для диагностики и оценки изменений, происходящих в паренхиме лёгких при возникновении и развитии ателектазов.

Научная новизна

В результате проведенного исследования впервые установлено, что ателектазы лёгких, как в клинике, так и эксперименте, формируются спустя некоторое, как правило, непродолжительное, время после лучевого воздействия. В эксперименте период, в течение которого развиваются инициальные (фоновые) изменения в легочной ткани, предшествующие формированию ателектазов, составляет от 1 до 3 суток от его начала. В клинике длительность латентного периода, предваряющего появление ателектазов, может варьировать от десяти до 30 суток и более в зависимости от состояния легочной ткани, степени выраженности И компенсированности предсуществующей патологии. Проведенное исследование впервые показало, что как в клинике, так и в эксперименте, в развитии ателектазов имеют значение быстро реализуемые факторы (факторы первого порядка), в частности, разрушение сурфактанта под действием ионизирующего излучения, повреждение эндотелиоцитов капилляров микроциркуляторного русла, расстройства кровообращения, приводящие к нарастающей гипоксии. В качестве медленно реализуемых факторов (факторов второго порядка) следует отнести повреждение (дистрофия И некроз) булавовидных клеток и альвеолоцитов II типа, нарастание бронхо-бронхиолярной обструкции и констрикции, либо существенного лимитирования просвета бронхов и бронхиол.

Для идентификации изменений, происходящих в лёгких при развитии ателектазов, были впервые использованы тонкие чувствительные прецизионные морфологические методы: иммуногистохимия, трансмиссионная и сканирующая электронная микроскопия, физико-химический метод раман-спектроскопии, позволяющий регистрировать «отпечатки» молекул органических и неорганических соединений, кумулирующихся в легочной паренхиме в процессе формирования и персистенции ателектазов и дистелектазов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты имеют важное теоретическое значение для абдоминальной патологической анатомии, грудной И хирургии, фтизиопульмонологии, травматологии ортопедии, И анестезиологии И поскольку вносят существенный вклад в реаниматологии, понимание и расширение представлений о морфогенезе ателектазов, возникающих при радиоиндуцированном воздействии на лёгкие. Результаты исследования существенно дополняют имеющиеся фундаментальные сведения и расширяют существующие теоретические представления о закономерностях возникновения и развития ателектазов легких. В работе выявлены морфологические особенности и временные характеристики формирующихся в легком ателектазов. Установлено, что первоначально ателектазы и дистелектазы развиваются преимущественно субплеврально и являются монофакторными, сурфактантзависимыми. Ателектазы, расположенные интрапульмонарно, относятся к многофакторным и развиваются на фоне сохраняющегося дефицита сурфактанта, имея в виду не только характеристики, количественные, но И качественные его расстройства кровообращения, прогрессировании бронхиальной и бронхиолярной констрикции и обструкции. Интрапульмонарные ателектазы отличаются от субплевральных многочисленностью, меньшей площадью и мозаичностью расположения.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости использования для профилактики развития ателектазов и терапии в начальной стадии их формирования сурфактант-содержащих препаратов, обладающих не только антиателектатическими, но также антиоксидантными, радиопротективными и эндотелиопротективными эффектами. Таким образом, полученные в результате проведенного исследования данные о морфогенезе ателектазов, развивающихся при воздействии ионизирующего излучения, могут быть положены в основу разработки схемы профилактики и лечения ателектазов, использованы при пересмотре и усовершенствовании Стандартов оказания медицинской помощи пациентам, страдающим заболеваниями органов дыхания и другими, использованы

в учебном процессе на лечебном и педиатрическом факультетах высших медицинских учебных заведений, системе непрерывного медицинского образования.

Методология и методы исследования

Для выполнения данной работы была разработана оригинальная методология, базирующаяся на применении метода мультиплексного анализа, проводимого, с одной стороны, для определения в одном образце (препарате), содержащем легочную паренхиму и строму, максимально возможного объема данных посредством использования рутинных общепринятых (макроскопическое описание, гистологическое изучение) технологий и тонких прецизионных морфологических (иммуногистохимическое, трансмиссионное и сканирующее электронномикроскопическое исследование) подходов. С другой стороны, метод мультиплексного анализа позволяет также одновременно идентифицировать молекулы различных химических соединений, кумулирующихся в легких при радиоиндуцированном воздействии и влияющих на возникновение и развитие в них ателектазов, при помощи современных морфометрических и биофизических спектроскопия) методов, предусматривающих использование (рамановская оригинальных компьютерных программ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Ателектазы, возникающие при однократном лучевом воздействии на легкое в эксперименте, после непродолжительного предателектатического периода, в течение которого формируются так называемые фоновые изменения, субплевральные, подразделяются на ранние В основе которых лежат фосфолипидов сурфактанта, количественные качественные изменения И

расстройства кровообращения и нарастающая гипоксия ткани и поздние интрапульмонарные, возникающие в результате сужения просвета бронхов и бронхиол при сохранении качественного дефицита сурфактанта, обусловленного повреждением булавовидных клеток и альвеолоцитов.

2. У лиц, получавших лучевое воздействие на грудную клетку в комплексном лечении рака молочной железы, возникающие ателектазы также подразделяются на субплевральные и интрапульмонарные и в большинстве случаев имеет место их сочетание, при этом изменения просвета воздухопроводящих путей не играют существенной роли в их возникновении.

3. В экспериментальных условиях возможно как разрешение обоих вариантов ателектазов и восстановление воздушности легочной ткани, так и развитие фиброателектазов. Во всех клинических наблюдениях формирование ателектазов, в отсутствие предсуществующей легочной патологии, является фактором, усиливающим фиброзирование ткани легких.

Личный вклад автора

принял участие в выборе темы диссертационной Автор работы, формулировке ее цели и задач, аргументировал её актуальность на основании тщательного и всестороннего анализа доступной литературы, а также участвовал в разработке методологии исследования. Автор лично определил оптимальное количество клинических наблюдений И экспериментальных животных, необходимых для решения задач настоящей работы, набор необходимых методов исследования, принял участие по их материально-техническому обеспечению. В ходе работы совместно с врачами рентгенологами и радиологами участвовал в осуществлении прижизненной диагностики ателектазов легких, впоследствии лично провёл секционное исследование лиц с установленными при жизни ателектазами легких. Осуществил забор секционного и экспериментального материала, провел гистологическое, иммуногистохимическое,

электронномикроскопическое и морфометрическое исследования, принял участие в анализе, научной интерпретации и статистической обработке полученных результатов.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается использованием значительного и адекватного количества научных источников по теме диссертации; разработкой оригинальной методологии исследования, предусматривающей использование метода мультиплексного анализа; применением большого набора разнообразных методов (иммуногистохимический, электронномикроскопический, раман-спектроскопический и др.) изучения образцов легочной ткани; проверки достоверности путем сравнения клинических и экспериментальных данных. Достоверность результатов также подтверждается значительным объемом секционного материала и достаточным количеством исследованных лабораторных применённых животных, адекватностью методик, В том числе методов статистической обработки результатов исследований, качеством использованного оборудования и его сертификацией.

Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на научнопрактической конференции «Актуальные вопросы патологической анатомии» (Тюмень, 2018 г.); научной конференции с международным участием, посвященной 170-летию кафедры патологической анатомии имени академика А.И. Струкова (Москва, 2019 г.); XXXI Европейском конгрессе патологов (Ницца, 2019г.); Научной конференции, посвященной 160-летию кафедры патологической анатомии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, 2019г.); Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 12-13 ноября 2020 г.); XXXII Европейском конгрессе патологов (Глазго, 2020 г.), Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной памятной дате Института (60-летию НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына), Москва, 18-19 ноября 2021 г.), XXXIII Европейском конгрессе патологов (Гётеборг, 2021).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в учебном процессе, проводимом со студентами лечебного и педиатрического факультетов, на кафедре патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России и в практической деятельности патологоанатомического отделения ГБУЗ «Городская клиническая больница №40 Департамента здравоохранения города Москвы».

Публикации результатов работы

По результатам исследования опубликовано 9 работ, в том числе 3 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных работ.

Объем и структура исследования

Диссертация изложена на 162 страницах, состоит из введения, 4 глав с изложением состояния и степени разработанности темы исследования на основании анализа современной литературы, использованных методик исследования, основных результатов проведенной работы, их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, включающего 213 источников, в том числе 43 отечественных и 170 иностранных, а также приложений. Работа иллюстрирована 59 рисунками и 17 таблицами.

Диссертация соответствует паспорту специальности: 3.3.2 патологическая анатомия.

Глава 1. АТЕЛЕКТАЗ ЛЁГКОГО, ВОПРОСЫ КЛАССИФИКАЦИИ, ЭТИОЛОГИИ, ПАТО- И МОРФОГЕНЕЗА (обзор литературы)

1.1. Дефиниции и классификации ателектазов лёгкого, особенности их возникновения, развития и морфологические проявления

Ателектазы лёгкого с развитием более или менее выраженной дыхательной недостаточности описаны в литературе неоднократно [40, 57, 80]. Вместе с тем в настоящее время не представляется возможным определить единственную приоритетную работу, в которой было бы раскрыто существо данной патологии, а этот термин использован впервые. К одной из первых научных публикаций, посвященных проблеме «безвоздушного лёгкого», по-видимому, можно отнести исследование немецкого врача Э. Йорга (Eduard Jörg (1808–1878)), который в 1832 году представил описание совершенно нового состояния, названного им «Atelectasis pulmonum» [112]. Изучая лёгкие новорожденных, проживших несколько суток или недель и внезапно умерших от дыхательной недостаточности, автор обнаружил выраженное уплотнение, конденсацию отдельных участков и сделал вывод о том, что эти зоны лёгочной ткани не были расправлены вздохом после рождения. Лёгкие умерших по большей части оставались уменьшенными в коричнево-красными, размерах, плотными, недостаточно наполненными атмосферными воздухом и при погружении в воду опускались на дно сосуда. Тремя годами позже (1835) Э.Йорг опубликовал монографию с оригинальным названием «Die Foetuslunge im geborenen Kinde», в которой описал сущность новой патологии и дифференцировал её от других известных в то время заболеваний и состояний, патологических именуемых пневмониями, опеченениями, Предложенная технология индурациями. ИМ расправления спавшихся ателектатических лёгких посредством нагнетания в них воздуха через трахею, оказалась настолько простой и убедительной, что практически сразу была принята германским сообществом патологоанатомов. В то же время при наличии воспалительных изменениях в лёгочной ткани эффект от введения воздуха оказывался отрицательным [113, 184].

Термин ателектаз греческого происхождения [22] и состоит из 2 составляющих: «atelez (ateles)» - неоконченный, неполный и «ektasiz (ektasis)» - растягивание, что означает неполное раскрытие и применяется только к патологии лёгких [95, 150]. Представители отечественной школы патоморфологов и пульмонологов понимают под ателектазом полное спадение просветов респираторного отдела лёгких (альвеол, альвеолярных мешочков, ходов и респираторных бронхиол). В противоположность этому неполное спадение ткани лёгкого обозначается термином «дистелектаз» [39].

В англоязычной медицинской литературе термин ателектаз наиболее часто используется для обозначения патологического состояния нарушенного расправления лёгких именно при рождении, а для описания состояния безвоздушности ранее расправившегося лёгкого употребляется словосочетание «лёгочный коллапс» (pulmonary collapse) [203]. Ателектаз не расправившегося после рождения лёгкого называют первичным, а ранее функционировавшего лёгкого – вторичным [81].

Со временем по мере накопления достаточного количества клинических наблюдений также стало использоваться, впоследствии чаще a стало общепринятым, разделение ателектазов на врожденные и приобретенные, причём последние могут наблюдаться в любом возрасте [196, 160]. В Международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10) ателектаз входит в рубрику «Другие респираторные нарушения (J98) и обозначается, как легочный коллапс (J98.1), включающий, как ателектаз, так и коллапс легкого [107]. Ателектаз является самым частым патологическим состоянием и/или осложнением, наблюдаемым врачами рентгенологами, однако нередко используется и в качестве составляющей диагноза не только ими, но и врачами других клинических специальностей (хирургами, фтизиатрами, онкологами), при ЭТОМ всегла сохраняется необходимость в проведении дифференциальной диагностики с другими заболеваниями лёгких, в первую очередь пневмониями [118, 151].

Чухриенко Д.П. и Чухриенко Н.Д., изучавшие ателектазы легкого, установили, что подавляющее большинство из них относятся к категории обтурационных, то есть имеющих в качестве основной причины развития бронхиальную обструкцию или существенное лимитирование просвета бронхов и бронхиол, а остальные, реализующиеся в послеоперационном периоде, являются компрессионными, возникающими в результате сдавления легкого содержимым плевральных полостей (воздух, жидкость и др.). Наибольшее количество обтурационных по своей природе ателектазов регистрировалось при центральном или смешанном раке легкого – 46,35%, намного меньше при хронических абсцессах легкого, бронхоэктатической болезни и бронхиальной астме – 10,9%, 8,5% и 7,9% соответственно. Послеоперационные ателектазы и ателектазы, возникающие после закрытой травмы груди, отнесенные исследователями к категории компрессионных, наблюдали в 8,97 и 2,41 процентах случаев соответственно [40].

Вместе с тем, следует констатировать тот факт, что существующие в настоящее время немногочисленные классификации ателектазов, в основном, сосредоточены в учебных пособиях и монографиях, посвященных изучению патологии органов дыхания и воздухопроводящих путей, и ни одна из них, на наш взгляд, не может претендовать на полноту изложения и учёт всех возможных классификационных рубрик. Одни классификации учитывают сроки, причины и механизмы возникновения (этиология и патогенез) и распространенность патологического процесса в лёгком, другие - особенности клинического течения и возможность восстановления воздушности лёгочной ткани (обратимость), прочие - состояние функции органов дыхания и кровообращения [37, 39, 152, 207]. Тем не менее, анализ доступных классификационных подходов позволил упорядочить и объединить разрозненные сведения, касающиеся рубрификации ателектазов легких и отнести последние по срокам возникновения на первичные, наблюдающиеся только у мертворожденных и возникающие, очевидно, в процессе эмбриогенеза, пренатального онтогенеза или антенатально, а также вторичные (приобретенные), возникающие уже в постнатальном онтогенезе, то есть в любом По возрасте рождения. после механизму возникновения ателектазы

подразделяются на обтурационные, при которых имеет место и преимущественно причиной ИХ развития является обструкция воздухопроводящих путей; компрессионные, чаще всего связанные с проведением различных хирургических операций или инвазивных манипуляций, а также нередко отягчающие течение различных травм грудной клетки, иными словами развивающиеся в условиях, при которых создаются предпосылки для попадания в плевральную полость жидкости, воздуха, инородных тел, сдавливающих легкие извне и способствующих их спадению. Нередко в качестве причины развития ателектазов может быть нарушение функционирования сурфактант-альвеолярного комплекса [10, 14, 31], в результате чего становится возможным спадение паренхимы легкого и развитие сурфактантзависимого (адгезивного) ателектаза или дистелектаза. При проведении оперативных вмешательств на органах грудной (реже) или брюшной (чаще) полостей возможно развитие ателектазов легких, относящихся к категории неврогенных (рефлекторных), возникающих в результате резкого стойкого сокращения или дисфункции диафрагмы и/или мышц грудной клетки [103, 44, 142]. Значительно реже используется распределение ателектазов на основании перкуторно-аускультативных характеристик и рентгенологической картины на Подобное деление ранее округлые (сферические) и дисковидные. чаше использовали зарубежные специалисты [134, 144, 158, 179], однако в последнее время это стало привлекательным и для ряда отечественных [38] исследователей. Деление ателектазов по распространенности процесса, является одним из первых и наиболее употребляемых классификационных подходов [37, 113]. Один из известнейших и авторитетнейших российских патологов М.Н. Никифоров считал ателектазы непременным атрибутом и одной из главных составляющих практически любого пневмонического фокуса (очага) [24]. Это послужило основой для разделения ателектазов на тотальные, включая долевые и очаговые, а также сегментарные, субсегментарные, дольковые, ацинарные. Практически всегда использовалось и используется в настоящее время деление ателектазов по клиническому течению на острые и хронические, и эта рубрификация, безусловно, относится к разряду подтвержденных морфологически [95, 99]. Действие

этиологического фактора может реализовываться в течение короткого или относительно длительного временного промежутка. А.Л.Черняев в качестве примера острого ателектаза приводит ателектаз, возникающий при наличии транссудата в плевральной полости, а в качестве хронического - ателектаз, образующийся вследствие пропотевания экссудата [39].

С точки зрения лечения врачи клинических специальностей (хирурги, анестезиологи-реаниматологи и др.) подразделяют ателектазы на обратимые и необратимые. Под обратимым ателектазом понимают возможность возвращения ранее спавшегося участка лёгкого в более или менее сохранное состояние, что или частичное восстановление подразумевает полное его воздушности, позволяющее выполнять газообмен и другие функции. Необратимый ателектаз предполагает отсутствие разрешения в течение более чем 60 дней, переход в хроническую форму, развитие фиброзирующих изменений и ремоделирование лёгочной ткани [133, 141]. Наконец, в зависимости от морфофункционального состояния органов дыхания и кровообращения ателектазы могут быть отнесены к категории компенсированных, субкомпенсированных и декомпенсированных [67, 101, 128, 155, 207].

Таким образом, этиология почти всех ателектазов сводится к воздействию на структуры лёгкого механических, а на практике обычно ещё и сопряженных с ними функциональных факторов. К механическим относят обтурацию или компрессию воздухопроводящих путей и/или лёгких, паренхимы приводящих К гиповентиляции, нарушениям кровообращения и, как следствие, развитию гипоксии. Несмотря на очевидное многообразие этиологических факторов ателектазов, наиболее частыми причинами их развития являются следующие: обструкция воздухопроводящих путей или существенное лимитирование их просвета; компрессия обычно извне паренхимы лёгких в результате травмы, либо внутрилёгочными и внелегочными образованиями; изменение поверхностного натяжения в альвеолах и бронхиолах в результате недостаточности сурфактанта или его дисфункции [168, 86, 155, 212].

Обструкция воздухопроводящих путей чаще всего обусловлена опухолями как первичными, так и метастатическими, воспалением (туберкулез, саркоидоз), либо их закупоркой инородными телами, пищей, содержимым желудочнокишечного тракта [5, 62, 145]. Традиционно в развитии ателектазов выделяют несколько стадий: раннюю, промежуточную и завершающую [39]. Вместе с тем, на морфогенез ателектазов определенно оказывает влияние ряд обстоятельств: наличие или отсутствие предсуществующей и/или сопутствующей легочной патологии, проведение операционных или иных лечебных и диагностических инвазивных мероприятий (удаление содержимого плевральной или брюшной полостей с использованием игл и троакаров). Однако, даже с учетом морфогенеза вышесказанного, изучение ателектазов при исследовании клинического материала неизбежно сопряжено с определенными трудностями, поскольку обычно о самых ранних инициальных изменениях, возникающих в легочной паренхиме, после обтурации, компрессии или рефлекторного спадения обычно можно судить на основании анализа клинико-лабораторных данных и результатов компьютерной, а также магнитно-резонансной томографии [8, 63, 45, 104]. Редкие секционные наблюдения отмечают в раннем периоде развития ателектаза уменьшение в объёме соответствующего участка ткани легкого, пестроту легочной паренхимы, обусловленную чередованием участков повышенной полнокровия воздушности с участками И кровоизлияний, приобретение плеврой складчатого вида в местах субплеврального расположения ателектазов [26, 208]. Важной особенностью ателектазов, выявляемой при патогистологическом исследовании, является мозаичность поражений легочной паренхимы за счет наличия ацинарных ателектазов, дистелектазов и участков острой эмфиземы [30]. Другой особенностью является отсутствие больших ателектатических полей и феномена «полного спадения альвеол» (взято в кавычки мною, С.Т.), а утолщение межальвеолярных перегородок авторы объясняют расширением и полнокровием капилляров, либо «удвоением» (взято в кавычки мною, C.T.) альвеолярных септ при спадении [23]. Обнаруженные на ультраструктурном уровне опустошение осмиофильных пластинчатых телец

(ОПТ) и слущивание альвеолоцитов II типа (AII) сочетались с повышением показателя стабильности легочных пузырьков, что дало основание авторам отнести как операционные, так и неоперационные ателектазы к категории относительно сурфактант-независимых [163, 176, 210]. Тем не менее, вторичный дефицит сурфактанта, возникающий в результате угнетения синтезирующей активности альвеолоцитов второго типа (AII), является, по мнению авторов, фактором, препятствующим разрешению ателектаза. При моделировании обтурационного ателектаза в эксперименте показано, что его ведущими морфологическими признаками спустя несколько суток являются прогрессирующее уменьшение объёма альвеол вследствие их полного или частичного спадения, утолщение межальвеолярных перегородок за счет развития отёка различной степени выраженности и клеточной инфильтрации [149, 72, 69]. Эти изменения являются следствием повышенной проницаемости аэрогематического барьера (АГБ), и обычно сочетаются с накоплением в этих участках клеточных элементов (альвеолярные макрофаги, эритроциты). По мнению Есиповой И.К., ещё более ранними, инициальными изменениями, предшествующими и обуславливающими развитие некоторых видов ателектазов, являются расстройства кровообращения, наблюдаемые не только в капиллярах, но и сосудах более крупного калибра. В течение первых 12-24 часов на фоне сохраняющегося полнокровия происходит агглютинация эритроцитов, преципитация белков плазмы и развитие сподогенных тромбов [11]. При персистенции расстройств кровообращения неизбежным становится прогрессирование люминарного и мурального отека и гипоксии паренхимы легкого. Всё это способствует деструкции сурфактанта, нормальный метаболизм и восстановление которого требует адекватного кровообращения. К аналогичному выводу пришли Березовский М.Е. и соавт., изучавшие морфогенез ателектазов у детей с использованием электронной микроскопии, установив, что полнокровию капилляров, плазморрагии, диапедезу эритроцитов предшествует набухание эндотелиальных клеток, сопровождающееся увеличением И деструкцией их отростков, усилением пиноцитоза, появлением вуалевидных выростов эндотелия, суживающих просвет капилляра [6]. Этот период

характеризуется разрешением люминарного и уменьшением интерстициального отека в лёгком, сохраняющимся утолщением альвеолярных септ как за счет клеточной инфильтрации, так и, в меньшей степени, за счет развития начальных фиброзных изменений в волокнистой составляющей (слабая фуксинофилия). Происходит редукция капиллярного русла, что проявляется уменьшением их количества и преобладанием капилляров с щелевидным просветом, развитием. В просвете альвеол накапливается много ШИК-положительных альвеолярных макрофагов.

В последующие 35–60 суток (хронический ателектаз) происходит разрастание коллагеновых волокон, огрубение и фрагментация эластических волокон, клеточный инфильтрат становится более однородных и состоит из лимфоцитов. Существование ателектаза на протяжении месяца приводит к повышению сосудистого сопротивления в зоне прекратившейся вентиляции. На ультраструктурном уровне это проявляется усилением редукции капилляров, что приводит к сбросу венозной крови через артерио-венозные анастомозы в большой круг кровообращения [162].

Шунтирование, являясь компенсаторно-приспособительной реакцией организма, вместе с тем, увеличивает нагрузку на левый желудочек, что в условиях нарастающей гипоксии отрицательно сказывается на его функции.

1.2. Морфологические особенности ателектазов легкого, реализующихся при воздействии ионизирующего излучения

Большинство эффектов ионизирующего излучения реализуются в биологических объектах благодаря его взаимодействию с атомами любого органического вещества. Важной особенностью практически всех видов ионизирующих излучений является их высокая проникающая способность в ткани, безусловно зависящая от их строения, структурной организации и функциональной активности. Рентгеновское и у-излучения представляют собой энергию электромагнитного поля, спектры которых не имеют принципиальных различий между ними по физическим свойствам и биологическим эффектам [28, 204]. Несмотря пролиферативную на сравнительно невысокую активность капиллярной системы и альвеолоцитов, лёгкие составляющих являются высокочувствительным действию облучения при органом к высоких терапевтических дозах. Однако последствия радиоиндуцированного воздействия в лёгких проявляются не столь стремительно, по сравнению, например, с костным мозгом или пищеварительной системой [43]. Изменения в легких, возникающие в результате лучевого воздействия, чаще всего называются радио-индуцированным повреждением легких (РИПЛ), проявляющимся многообразием клинических и особенностей морфологических И завершающимся либо радиационным пневмонитом (РП), либо радиационным фиброзом (РФ) [48, 50]. В англоязычной литературе с этой целью обычно используется аббревиатура RILI (Radiation-Induced Lung Injury), также представляющая собой собирательное понятие, включающее оба дозозависимых эффекта радиовоздействия [84] или радиотерапии - РП и РФ [48, 90]. Существуют, по меньшей мере две точки зрения, объясняющие механизм повреждающего действия у – и рентгеновского излучения на ткань лёгкого. Во-первых, это нарушение структуры ДНК в результате прямого альтеративного воздействия ионизирующего излучения, приводящего к повреждению и разрыву обеих цепочек нуклеиновой кислоты и прекращению её репликации [137]. В результате этого буквально через несколько минут после облучения поврежденная ДНК запускает внутриклеточную передачу сигналов, которая опосредованно через изменение экспрессии генов приводит к быстрому высвобождению цитокинов и многочисленных факторов роста, прежде всего, трансформирующего фактора роста β (TGF- β), фактора роста тромбоцитов (PDGF) и интерлейкина-1 (ИЛ-1) [109, 177]. Другими механизмами, вызывающими повреждение клетки, являются разложение различных химических соединений и воды, получившее название радиолиз и сопряженная с ним ионизация молекул воды. Ионизация воды генерирует активные формы кислорода (АФК), среди

которых доминируют супероксиданионрадикалы, гидроксильные и метильные радикалы, окислы азоты и многочисленные перекиси водорода [87]. Понимание радиолиза воды играет критическую роль для объяснения существа последующих радиобиологических эффектов, которые опосредуются благодаря образованию большого количества свободных радикалов и активных форм кислорода [186, 198], включая возможное повреждение ДНК гидроксильными радикалами [64, 106, 173].

Усиление кислородом лучевого повреждения биологических структур, является одной из ключевых особенностей ионизирующей радиации и наиболее ярко проявляется в лёгких, как органе, выполняющем газообменные функции. Этот феномен, подробно изученный Л.Х.Грэем (1953), получил название кислородного эффекта, при этом кислородозависимая модификация радиочувствительности обычно сильно выражена и во многом определяет эффект лучевого воздействия [119, 89]. Вместе с тем, возникающий радиационный пневмонит, являясь по своей природе воспалительным процессом, подчиняется всем тем закономерностям, которые свойственны воспалению, и завершается развитием пневмосклероза различной степени выраженности, корреспондирующей с интенсивностью альтеративных и экссудативных изменений на начальных этапах морфогенеза [89, 92, 116, 180].

Технологии использования лечебного эффекта ионизирующего излучения в медицине нашли наибольшее применение в терапии злокачественных новообразований и включены в клинические рекомендации. При этом целью лучевой терапии является максимизация дозы облучения опухолевых клеток при минимизации воздействия на сохранившиеся, не пораженные опухолевым процессом, ткани и органы [98, 105].

Радиотерапия, являясь по сути инвазивным методом лечения с хорошим лечебным потенциалом, несёт риск последующих осложнений со стороны сердечно-сосудистой и дыхательной систем [27, 94, 157]. Радиоиндуцированное повреждение лёгких может возникать не только при терапии злокачественных опухолей, но и у лиц, связанных с добычей, переработкой и использованием источников радиации, а также в результате различных техногенных катастроф, из

которых одной из самых значительных явилась авария на Чернобыльской атомной электростанции. В значительной части случаев, при воздействии ионизирующего излучения на лёгочную ткань развивается радиационный пневмонит [32, 125, 143, 35]. При радиотерапии радиационный пневмонит и предшествующий или ассоциированный с последним ателектаз (ателектазы) остаются наиболее выраженными побочными эффектами лечения, наблюдающимся в 30 - 40% случаев [148, 188]. Врачи клинических специальностей и специалисты в области лучевой диагностики и терапии не задаются вопросом о морфогенезе возникающих ателектазов, ограничиваясь зачастую лишь констатацией их особенностей. Впрочем, приводимые исследователями данные в значительной части случаев противоречивы. Так, в частности, в большинстве клинических наблюдений отмечается, что ателектазы гораздо чаще возникают при центральном, нежели периферическом или смешанном раках легкого [185], причем нередко они могут формироваться постепенно, исподволь, предшествуя иногда лучевому воздействию. В процессе лучевой терапии ателектазы, как правило, могут меняться в объеме [190] и, по данным Tennyson, N и др [185], проводивших постоянную трехмерную визуализацию ателектазов, в 83% случаев площадь ателектазов сокращается, при уменьшении основного узла опухоли. На частоту возникновения ателектазов существенным образом распространенность может влиять И повышенное давление в воздухопроводящих путях, из-за нагнетания кислорода или воздушной смеси перед началом лучевого воздействия [47]. Нередко авторы указывают на несомненную схожесть клинико-рентгенологической картины интерстициального фиброза легких, явившегося фоновым состоянием для реализовавшегося рака легкого и возникающего в результате лучевой терапии ателектаза или коллапса легкого. Для диагностики и того, и другого в таких случаях авторы рекомендуют использовать либо метод векторного поля, при котором вектор скорости распространения у-излучения в участках склероза и ателектаза (коллапса) будут существенно отличаться, либо метод Якоби (разновидность стационарного метода простой итерации, используемого при стереотаксических манипуляциях) [159, 80]. Проведенные исследователей рядом как ретроспективные, так и проспективные, когортные исследования внесли существенный вклад в понимание существа радиоиндуцированных ателектазов, которое заключается в следующем. Радиоиндуцированные ателектазы могут возникать через 1,1 до 30 месяцев от начала облучения, хотя обычно большинство из них реализуется в течение первых 8 месяцев после начала лечения или воздействия источника ионизирующего облучения. Ателектазы, относящиеся к данной категории возникают далеко не у всех, а лишь у 24,3 процентов пациентов, получающих лучевую терапию. Наконец, возникающие ателектазы являются дозозависимыми и проявляются лишь при лучевом воздействии в дозе 210 Гр и выше, причем суммарная доза благодаря использованию стереотаксической аппаратуры распределяется между легочной паренхимой и бронхами [115]. Описаны также результаты исследований 48 больных бронхогенной карциномой с тотальным ателектазом легкого, вызванного обструкцией главного бронха. В результате проведенной лучевой терапии, приведшей к уменьшению опухолевого узла и ликвидации бронхиальной обструкции у 74% лиц произошло полное или частичное разрешение ателектаза, у 23% пациентов лечение эффекта не имело, а у 12% больных имел место рецидив ателектаза после его частичного разрешения и восстановления воздушности легочной ткани [156, 194]. Сходные данные приводят Majid et.al [130], исследовавшие 33 случая с впервые выявленным раком легкого, ассоциированным с ателектазом. При прогрессирования опухолевого процесса и развития канцероматоза плевры на фоне лучевой терапии возможно развитие, так называемых пассивных, по сути своей компрессионных (выделено мною, С.Т.), ателектазов, вторичных по отношению к содержимому плевральной полости жидкости, воздуху, либо тому и другому [139]. Эти ателектазы характеризовались отсутствием эндобронхиальной обструкции и наличием четкой демаркационной линии между сохранной и аномальной коллапсирующей паренхимой легких.

В немногочисленных экспериментальных исследованиях, посвященных изучению морфогенеза лучевых повреждений легких и методам его коррекции [9, 15, 161], установлено, что изменения, возникающие в легких при радиоиндуцированном повреждении можно условно разделить на три стадии:

раннюю (1-30 сутки после облучения), стадию персистенции (31-60 сутки после облучения) и позднюю (61-90 сутки после облучения). В начальную стадию происходят повреждения эндотелия капилляров и альвеолоцитов, к которым присоединяются очаговые, а затем диффузные расстройства кровообращения в виде полнокровия и отека легочной ткани. Для стадии персистенции характерным было формирование капиллярно-альвеолярного блока, особенностью которого было разобщение сосудистой и клеточной составляющих аэрогематического барьера (АГБ), в результате инфильтрации межальвеолярных перегородок первоначального мононуклеарами, а затем фибробластами, что сопровождалось их утолщением. Поздняя стадия характеризовалась фиброзом легочной паренхимы различной степени выраженности, склерозом кровеносных сосудов И воздухопроводящих путей разного калибра. Что касается возникновения и развития ателектазов в эксперименте, то в раннюю стадию они были единичными и сочетались с появлением признаков люминарного серозно-геморрагического альвеолита на фоне выраженных нарушений кровообращения. В стадию персистенции ателектазы были более многочисленными и реализовывались на фоне прогрессирования диффузных изменений дыхательной паренхимы в виде инфильтрации межальвеолярных перегородок vсиления клеточной И ИХ утолщения. В позднюю, заключительную стадию эксперимента ателектазы носили характер фиброателектазов, либо идентифицировались по наличию очаговых изменений в виде полей склероза на месте предсуществующих ателектазов. Поскольку в данных исследованиях основной целью было изучение влияний корригирующих средств на течение РИПЛ, то частота и сроки возникновения ателектазов прямой зависимости находились В от использования или неиспользования либо больших олигослойных липосом, содержащих фосфолипиды сурфактанта и, прежде всего, фосфатидилхолин, либо самого сурфактанта в качестве модифицирующих лучевую патологию средств. Так, в частности, к завершению эксперимента (90 сутки) после локального облучения грудной клетки в дозе 12 Гр ателектазы обнаруживали в 19±1,0% случаев в отсутствие корригирующих средств и в 11±1,3% на фоне применения больших

олигослойных При липосом. использовании сурфактанта В качестве модифицирующего патологию средства в сходных условиях эксперимента и дозы эти показатели составляли 20±14% и 13±1,1% соответственно. Эти наблюдения позволили сделать вывод об относительной частоте возникающих при лучевом воздействии ателектазов, а именно лишь у каждого пятого экспериментального животного, и о некотором снижении частоты их возникновения при применении фосфолипидсодержащих субстанций. Эти исследования, безусловно, свидетельствуют о более или менее значительной роли дефицита сурфактанта в развитии наблюдаемых в части случаев радиоиндуцированного воздействия на ткань легкого ателектазов. К великому сожалению, ни вышеупомянутые, ни другие, аналогичные исследования, содержащие сведения о морфогенезе РИПЛ и констатирующие возникновение ателектазов легкого при облучении, не дают исчерпывающего ответа об их морфогенезе и объясняют причины их возникновения лишь у части экспериментальных животных. Определенную ясность в понимание морфогенеза ателектазов легкого при радиоиндуцированном повреждении легочной паренхимы внесли лишь исследования последних лет, выполненные на экспериментальных животных, в которых РИПЛ рассматривается с позиций возникновения и прогрессирования радиоиндуцированной легочной токсичности [77, 90, 116], которая подразделяется на три фазы: острую, подострую и позднюю. Именно в острую фазу, которая охватывает временной промежуток от первых минут после облучения до нескольких дней происходит повреждение альвеолоцитов и эндотелиоцитов [78], межальвеолярных перегородок (МАП), а также запускается механизм индуцированного ионизирующим излучением (ИИ) старения клеток, прежде всего, альвеолоцитов I и II типов (AI, AII) и эндотелия кровеносных и лимфатических капилляров. Поскольку эффект РИПЛ является дозозависимым, то в зависимости от индивидуальной чувствительности к ИИ, происходит либо клеточная гибель посредством некроза или апоптоза, либо старение вышеупомянутых клеток [100, 123]. И в том, и в другом случаях и гибнущие, и стареющие клетки высвобождают значительное количество провоспалительных цитокинов: трансформирующий фактор роста-β (TGF-β), IL-

1, 6, 8, фактор роста тромбоцитов (PDGF), хемокины и лиганды, в частности, CXCR1/2, а также каскад молекулярных паттернов, связанных с повреждениями (damage-associated molecular pattern (DAMP)) [60, 91, 146, 192, 120]. Все это и составляет сущность процесса старения (senescence-associated secretory phenotype (SASP)), обусловленного изменением профиля экспрессии генов в результате повреждения ДНК у-облучением [100, 65, 70, 131, 171]. Векторы влияния экспрессируемых медиаторов носят разнонаправленный характер, с одной стороны, они усиливают старение AI, AII и, с другой стороны, способствуют активации эндотелиальных и иммунных клеток. Гибель и старение альвеолоцитов обоих типов, вызванные повреждением ДНК ИИ, приводят к потере барьерной функции МАП, резкому уменьшению продукции сурфактанта, снижению поверхностного натяжения и развитию ателектазов, обусловленных нехваткой являющихся сурфактант-зависимыми. сурфактанта, есть ПО сути то Активированные иммунные клетки, в свою очередь, также являются продуцентами каскада молекулярных паттернов, цитокинов и хемокинов [200, 201, 202]. Именно иммунным клеткам, проникающим в ателектатическое поле поврежденного подострой легкого, принадлежит ведущая роль В реализации фазы радиоиндуцированной легочной токсичности, формировании векторов дальнейшего развития ателектазов и ремоделирования легочной ткани [167]. В эффекторными иммунными клетками избыточного результате экспрессии количества провоспалительных цитокинов IL- 3, IL-6, IL-7, TNF-а, TGF-β происходит активация фибробластов и инициация мощных дополнительных паракринных и аутокринных петель между ними и макрофагами с одной стороны и между ними и эндотелиоцитами – с другой [54, 76]. Результат этого проявляется в увеличении количества макрофагов, повышении концентрации TNF-α, а также IL-6, усилении пролиферации фибробластов [56, 189]. Наличествующая гипоксия тканей усиливается в результате потребления кислорода, необходимого для активации эффекторных иммунных клеток. В результате гипоксии происходит активация TGF-^β и усиление формирования коллагена в тканях. В фазу поздней TGF-β радиоиндуцированной токсичности концентрации повышение

сопровождается усилением экспрессии гена коллагена IV типа, переходом ателектаза в хроническую стадию и развитием склероза в ателектатическом поле [164].

С другой стороны, высвобождаемый каскад молекулярных паттернов может в ряде случаев осуществлять своё действие посредством передачи сигналов через рецепторы P2X, P2Y, а также toll-подобные рецепторы (TLR-2 и TLR-4) и NODподобные рецепторы (NLRP3) [154]. В случае РИПЛ при передаче сигнала TLR у животных со спонтанным или индуцированным нокаутом цитозольного адаптерного белка Myd88, обеспечивающего передачу сигнала от toll-подобных рецепторов, обнаружили значительное снижение коллагенообразования и уменьшение клеточной инфильтрации, что, в конечном итоге, после некоторого периода персистенции ателектазов способствовало полному или частичному разрешению ателектаза и восстановлению воздушности легочной ткани в большей или меньшей степени [88].

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о том, что сводить возникновение ателектаза к воздействию лишь одного этиологического фактора является не вполне обоснованным. Даже в случае радиоиндуцированного воздействия на легкие, степень развития и выраженности радиационной токсичности, одним из проявлений которой являются ателектазы легкого, зависит от многих различных факторов. У экспериментальных животных таковыми являются возраст, генетически обусловленная индивидуальная чувствительность к ИИ и особенности реализации дозозависимых факторов и кислородного эффекта в легких, включающих мощность дозы γ-излучения и применяемые в экспериментах режимы облучения. В клинике, помимо вышеперечисленных факторов, на развитие ателектазов в легких при РИПЛ влияют расположение опухоли, наличие или отсутствие сопутствующей или предсуществующей патологии органов дыхания и воздухопроводящих путей, а также курения. В настоящее время предпринимаются попытки прогнозирования эффектов радиоиндуцированной легочной токсичности, в виде разработки модели вероятности осложнений после применения ИИ. Таким образом, остаются неизученными вопросы количественной и качественной оценки изменений в лёгких при развитии ателектазов и их отсутствии.

1.3. Использование рамановской спектроскопии для диагностики заболеваний и патологических состояний

В результате многолетнего изучения трансформаций монохроматического света, падающего и проходящего через твёрдые, жидкие или газообразные объекты, были выявлены два вида его рассеяния. С одной стороны, упругое рассеяние света без изменения длины волны на частицах, неоднородностях или других объектах, но с интенсивностью рассеянного света, зависящей от длины волны падающего пучка света. В дальнейшем, этот вид рассеяния получил название рэлеевского рассеяния в честь британского физика лорда Рэлея, его открывшего и описавшего. С другой стороны, неупругое или комбинационное рассеяние оптического излучения на молекулах твёрдого, жидкого или газообразного вещества в сочетании с ощутимым изменением частоты излучения. По прошествии некоторого времени этот вид рассеяния был назван рамановским в честь индийского физика Ч.Рамана. Впоследствии оба первооткрывателя в разное время были удостоены Нобелевской премии по физике.

Открытие Ч.Раманом неупругого комбинационного рассеяния монохроматического света, названного в его честь эффектом Рамана, легло в основу метода рамановской спектроскопии (спектроскопии комбинационного рассеяния), позволяющего идентифицировать в спектре рассеянного излучения линии, отсутствующие в спектре падающего (возбуждающего) света. Поскольку данный вид рассеяния имеет «молекулярную» природу и частоты колебаний определяются характером внутри- и межмолекулярных связей, то спектр является уникальным для каждого химического соединения. При этом число и расположение линий на спектре позволяет сделать вывод о молекулярном строении, элементном составе, аллотропной модификации и агрегатном состоянии исследуемого образца. Помимо вышеупомянутых преимуществ рамановская спектроскопия по сравнению с другими диагностическими технологиями не требует специальной подготовки образца, но, в то же время, позволяет получить дополнительный объем регистрируемой информации. Поскольку рамановский эффект наблюдается в рассеянном свете от образца, а не в спектре поглощения им света и нечувствителен к полосам поглощения, представляется возможным его использование как в твердых образцах, так и жидких, и газообразных средах [30].

Первоначально рамановская спектроскопия применялась исключительно в геологии для идентификации геологических материалов и оценки включения в минералах и геммологии для идентификации и проверки драгоценных камней и выявления подделок. Несколько позже стала использоваться в пищевой и сельскохозяйственной промышленности выявления бактериальных для Сравнительно контаминаций пищевых продуктов. недавно метод нашел применение в медицине для анализа взаимодействия лекарственных препаратов с живыми клетками, выявления ранних стадий онкологических заболеваний, диагностики атеросклероза, воспалительных заболеваний различных тканей и органов. К приоритетным работам, в которых описаны примеры использования рамановской спектроскопии в качестве метода диагностики рака предстательной железы, следует по нашему мнению, отнести исследования Crow P. с соавт. [73], а при раке молочной железы - труды Krishna C.M. [121]. На сегодняшний день количество работ изучению потенциала применения рамановской ПО спектроскопии в медицине во всем мире, включая Российскую Федерацию, значительно возросло. Вместе с тем, наибольшее количество исследований, проводимых с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния, посвящено идентификации и дифференциальной диагностике злокачественных новообразований различных локализаций. Изучена диагностическая ценность рамановской спектроскопии при сравнении спектроскопических характеристик биоптатов стенки мочевого пузыря с результатами ИХ последующего

гистологического исследования. Чувствительность метода при этом составила 90-95%, а специфичность – 94-98%. Исследования по определению степени инвазии рака мочевого пузыря в окружающие ткани с использованием эндоскопического зонда «in vivo», проведенные Draga R.O. с соавт., показали увеличение интенсивности рассеяния света молекулами ДНК клеток опухоли, что позволило отличить ткань опухоли от непораженной ткани [83].

В литературе описаны примеры использования раман-спектроскопии в качестве метода дифференциальной диагностики рака предстательной железы на основании обнаруженных на спектрах изменений соотношения гликогена и ДНК в тканях с доброкачественной гиперплазией и аденокарциномой предстательной железы [71, 74]. При этом в случае рака предстательной железы было отмечено снижение интенсивности рамановского рассеяния гликогена, увеличение интенсивности рассеяния ДНК и обратная зависимость их спектральных характеристик в тканях с доброкачественной гиперплазией предстательной железы. В работе Artemyev D.N. с соавт. подчеркивается, что изменение длины волны лазерного излучения с 532 нм до 785 нм способствует выявлению дополнительных специфических маркеров опухоли за счет нивелирования эффекта флуоресценции образца [49]. В литературе описаны также примеры использования рамановской спектроскопии в стоматологии для оценки состояния твердых тканей зуба в норме и при кариесе [3]. Авторы не только разработали оптимальные параметры зондирующего излучения (синий свет лазера с длиной волны 405 нм) для применения данной технологии в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, но и определили видовую принадлежность микроорганизмов, их количественное распределение в твердых тканях зуба, а также степень деминерализации эмали и дентина. В литературе есть указания на использование рамановской спектроскопии комбинационного рассеяния в акушерстве и гинекологии для определения пула каротиноидов-антиоксидантов В плазме крови беременных женщин c преэклампсией. Выявлены значения интенсивности рамановского рассеяния каротиноидов при умеренной $(5,0 \pm 0,2)$, тяжелой формах преэклампсии $(6,1 \pm 0,3)$

и физиологически протекающей беременности (10,1 ± 0,6). При этом точность разделения классов «нормы» и «преэклампсии» составила 96% [41].

В обзорной работе Рафальского В.В. и соавт., проанализировавших значительное количество работ, посвященных использованию метода спектроскопии комбинационного рассеяния света и гигантского комбинационного рассеяния света для изучения функционального состояния тканей и клеток организма, а также перспективах применения этого подхода в современной кардиологии и смежных областях медицины, своеобразным рефреном звучит мысль о возможности с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния идентифицировать света ранее изученные маркеры сердечно-сосудистых заболеваний, а также производить поиск новых [29].

Используя метод рамановской спектроскопии, представляется возможным выявлять и осуществлять тонкую биохимическую оценку атеросклеротических поражений сосудов на ранних этапах заболевания, в том числе, применяя технологию «in vivo». Данный вид спектроскопии может использоваться также и с целью контроля количества элюируемого вещества из внутрисосудистых стентов для оценки клинической эффективности проведенных оперативных вмешательств. Кроме того, метод спектроскопии комбинационного рассеяния света предоставляет возможность выявить структурные изменения мембран тромбоцитов у пациентов с артериальной гипертензией, а также оценить жизнеспособность миокарда в пограничной зоне после инфаркта миокарда.

Согласно данным многочисленных исследований, рамановская спектроскопия может успешно использоваться и в эндокринологии для понимания неясных вопросов пато- и морфогенеза болезней желёз внутренней секреции. Так, в частности, Birech Z. et al. (2017) проводили исследование по идентификации в крови лейциновых и изолейциновых аминокислот в качестве биомаркеров сахарного диабета второго типа на основании их спектрального анализа [58]. В работе Loomis S.J. et al. (2018) была теоретически обоснована перспективность использования гликированного альбумина взамен гликированного гемоглобина в качестве маркера гликемии при сахарном диабете второго типа. К этому выводу

Loomis S.J. et.al. пришли, используя данные Dingari N.C. et al. (2012), которые впервые обнаружили и количественно определили гликированный альбумин с использованием рамановской спектроскопии [127, 79].

Комбинированный метод рамановской спектроскопии, сочетающий в себе по существу две, хотя и родственных, но отличающихся по физической сути технологии (флуоресценции и спектроскопии комбинационного рассеяния) был впервые использован для идентификации и оценки выраженности эндотелиальной дисфункции и оксидативного стресса, возникающих в легких при экспериментальном радиоиндуцированном повреждении [4, 17].

Настоящее время характеризуется широким распространением метода рамановской спектроскопии, обусловленным, с одной стороны, расширением его диагностического потенциала возможностями применения последнего не только для диагностики патологического процесса в тканях и органах, но и посредством спектроскопического исследования биологических жидкостей. С другой стороны, сверхмалые количества того или иного вещества, содержащегося в биологических объектах, прежде всего, жидкостях, стало возможно обнаруживать с помощью технологии гигантского комбинационного рассеяния, так называемой SERS (Surface enhanced Raman spectroscopy). При этом проводимые исследования предусматривают использование наноструктурированных металлдиэлектрических подложек, обеспечивающих гигантское усиление рамановского рассеяния и предоставляющих возможность идентифицировать компоненты асцитической жидкости [61].

Рамановская спектроскопия является достаточно точным и чувствительным методом диагностики, используемым в настоящее время в онкологии, кардиологии, стоматологии, акушерстве и гинекологии. Оценивая возможности рамановской спектроскопии по результатам многочисленных работ отечественных и зарубежных авторов, можно сделать вывод о том, что с помощью данного метода представляется возможным не только идентифицировать патологический процесс на основании обнаружения присущих ему специфических «оптических» маркеров, но и оценить дальнейшую его динамику. Кроме того, сопоставление результатов

рамановской спектроскопии с данными клинических и морфологических методов исследований позволяет расширить представления о патогенезе многих заболеваний.

Таким образом, на основании изученных литературных данных можно что ателектазы лёгких, возникающие после воздействия сделать вывод, ионизирующего излучения как одного из методов лечения пациентов, страдающих злокачественными новообразованиями, в том числе раком молочной железы, встречаются, по данным разных авторов, в трети случаев наблюдений. При этом морфогенеза ателектазов, особенно вопросы В начальный период ИХ формирования, изучены недостаточно, что и послужило поводом для нашего исследования.
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика экспериментального и клинического материала

2.1.1. Описание использованных в опытах экспериментальных (лабораторных) животных

B опытах было использовано всего 258 лабораторных животных. Радиационно-индуцированное воздействие 216 белых моделировали на нелинейных самцах крыс в возрасте 14-18 недель, массой тела 200-220 граммов. Контрольную группу составили 42 животных, которым имитировали облучение и гистологического, имммуногистохимического, использовали для электрономикроскопического и морфометрического исследований (МИ) лёгких, а также оценки суммарного содержания сурфактанта (СТ) и изучения фракционного состава его фосфолипидов в соответствии со сроками эксперимента (Таблица 1, Рисунок 1).

Таблица 1 - Количество лабораторных животных по срокам эксперимента

Срок	Кол-во облученных, шт.			Кол-во необлученных, шт.			
эксперимента	МИ	СТ	Всего	МИ	СТ	Всего	
1-сутки	29	7	36	2	5	7	
3 сутки	29	7	36	2	5	7	
7 сутки	29	7	36	2	5	7	
14 сутки	29	7	36	2	5	7	
50 сутки	29	7	36	2	5	7	
90 сутки	29	7	36	2	5	7	
Всего	174	42	216	12	30	42	
Состав, %	80,56%	19,44%	100,00%	28,57%	71,43%	100,00%	



Рисунок 1 - Дизайн эксперимента

Животных содержали в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных по две особи в одной клетке с нелимитированным доступом к воде и пище. Температура в комнате составляла 19±3°С, световой режим 12 часов, влажность 40–50%. Состояние животных оценивали по подвижности, уходу за собой, изменению массы тела, качеству волосяного покрова, признакам нарушения дыхания.

Вывод животных из опыта осуществляли на 1, 3, 7, 14, 50 и 90 сутки после радиационного воздействия и в соответствующих контрольных группах, посредством внутрибрюшинного введения нембутала в дозе 80 мг/кг., при котором происходила остановка дыхания и последующее прекращение жизнедеятельности.

При проведении облучения и иных манипуляций с лабораторными животными соблюдали требования Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [9, 10].

2.1.2. Морфологические особенности секционного материала

Для изучения последствий воздействия ионизирующего излучения в комплексном лечении пациенток с РМЖ на ткань легких, выполнили ретроспективное исследование (Рисунок 2), в которое включили медицинские карты 28 пациентов, согласно следующим критериям:

- 1) женщины, получавшие лучевое воздействие на область грудной клетки в соответствии с клиническими рекомендациями в период с 2016 по 2021 гг.;
- 2) средний возраст 66±9 лет;
- отсутствие записей в медицинской документации о предсуществующей патологии лёгких;
- указание в медицинской документации факта о выполнении компьютерной томографии с диагностированием одного или нескольких реализовавшихся ателектазов лёгкого после окончания курса лучевой терапии РМЖ;
- летальный исход и выполнение патологоанатомического вскрытия в ПАО ГБУЗ «Городская клиническая больница №40 Департамента Здравоохранения города Москвы».



Рисунок 2 - Дизайн клинического исследования

Критерием исключения служило отсутствие информации о прижизненно диагностированных по КТ ателектазов лёгких после окончания лучевого лучения по поводу РМЖ

В контрольную группу включили секционный материал лёгких 18 умерших (женщины, средний возраст 60±5,6 лет), у которых болезни лёгких и воздухопроводящих путей не были диагностированы ни клинически, ни морфологически.

2.2. Реализация радиационно-индуцированного повреждения легких в клинике и эксперименте

2.2.1. Моделирование радиационно-индуцированного повреждения легких в эксперименте¹

Радиационно-индуцированное повреждение легких воспроизводили с использованием рентгеновского терапевтического аппарата РУТ-250-15-2 (РУМ-17) со следующими техническими характеристиками: сила тока 15 миллиампер, напряжение 200 кВ, биметаллический медно-алюминиевый фильтр – 0,5 мм (Cu+), 1 мм (Al), доза локального облучения 12 Гр (указанная доза облучения для экспериментальных животных была выбрана с учетом наибольшей корреляции экспериментальных и клинических данных, так как стандартные процедуры лучевой терапии рака молочной железы предусматривают суммарную очаговую дозу (СОД) 46 Гр. на ложе послеоперационного рубца или опухоли, при этом поглощенная доза, приходящаяся на лёгкие, колеблется в интервале от 30 до 50% от СОД).

¹ Радиоиндуцированное повреждение лёгких на лабораторных животных моделировали сотрудники отдела биотехнологии ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им академика А.М. Гранова» Минздрава России под руководством доктора медицинских наук, профессора Розенберга О.А., которым приносим благодарность за помощь в работе.

Тело животного, находящегося под наркозом (нембутал 40 мг/кг веса), фиксировали на деревянной подставке, защищали от облучения свинцовым экраном толщиной 6 мм. с окном в проекции правого лёгкого размерами 3,0×2,5 см. Кожно-фокусное расстояние составило 25 см, что обеспечивало максимальное лучевое воздействие на сердечную долю правого легкого.

2.2.2 Основные характеристики и методика лучевого воздействия на область грудной клетки пациентам с раком молочной железы

Перед осуществлением дистанционной лучевой терапии предварительно компьютерную томографию определения топографовыполняли для анатомического взаимоотношения органов грудной клетки и выбора оптимального варианта дозного распределения. Дозиметрическое планирование лучевой терапии при лечении злокачественных опухолей пациентов выполнял специалист-физик при помощи сертифицированного в установленном порядке программного обеспечения «ГАММАПЛАН 1». В соответствии с методикой облучения, мощности излучателя, а также анатомических особенностей облучаемой поверхности производили расчет суммарных дозовых распределений. Дистанционную лучевую терапию осуществляли как в статическом, так и подвижном (ротационном) режимах, с использованием дистанционного метода, на гамма аппаратах Рокус-АМ, с энергией 1,25 МэВ, источником ионизирующего излучения ⁶⁰Со. Лучевую терапию осуществляли на область опухоли или область послеоперационного рубца и регионарного лимфооттока. При использовании классического режима фракционирования, расстояние источник – опухоль (РИО) составляло не более 75 см. Разовая очаговая доза составила 2 Гр, суммарная очаговая доза (СОД) - 46 Гр, всего выполняли 23 фракции-облучения, в режиме 5 дней в неделю с 2-х дневным перерывом. Таким образом, при проведении дистанционной лучевой терапии рака молочной железы дозовая нагрузка на легкие составила от 30 до 50% от СОД, или от 13,8 до 23 Гр.

2.3. Метод определения суммарного содержания и фракционного состава фосфолипидов легочного сурфактанта

На каждом сроке эксперимента для изучения динамики суммарного содержания фосфолипидов легочного сурфактанта (ЛС) а также его фракционного состава в обеих группах лабораторных животных проводили тотальный бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) выделенного правого легкого посредством его трехкратного промывания 4,0–4,5 мл 0,9% раствором хлорида натрия (температура 22–23°С). После этого объем лаважной жидкости, составлявшей 10–12 мл, центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 минут с последующим охлаждением для освобождения от клеток и дебриса. Супернатант, содержащий сурфактант, концентрировали упариванием на ротационном испарителе (Buchi, Швейцария). Аликвоту материала экстрагировали смесью хлороформа и метилового спирта в соотношении 1:2 и определяли в ней количество фосфолипидов по содержанию липидного фосфора после сжигания пробы при 180°С в хлорной кислоте [191].

2.4 Морфологические методы исследования

При исследовании секционного материала из каждой доли легких выделяли и исследовали по три фрагмента паренхимы, два из которых были покрыты плеврой, а один располагался интрапульмонарно (Рисунок 3). Отдельно маркировали фрагменты, соответствующие стороне лучевого воздействия, на которую должна была приходиться максимальная изодоза ионизирующего излучения. Образцы помещали в гистологические кассеты с последующей фиксацией в 10% растворе нейтрального формалина на фосфатном буфере. Временной интервал с момента регистрации смерти пациента до начала фиксации материала в формалине составлял от 6 до 48 часов. После фиксации в течение 24 часов выполняли вырезку образцов для последующего гистологического исследования. В кассеты помещали фрагменты ткани лёгких из ателектатических участков и соседствующих с ними. Также для анализа брали фрагменты из контрлатерального



Рисунок 3 - Схематическое изображение участков при исследовании секционного материала

лёгкого.

В эксперименте после прекращения жизнедеятельности животным вскрывали грудную клетку и производили процедуру расправления ткани легких посредством введения 4,5-5,0 мл 10% раствора нейтрального формалина на фосфатном буфере (pH=7.4), через прокол между кольцами трахеи. Предварительное морфологическое исследование легких в различные сроки после радиационно-

индуцированного воздействия показало неодинаковую степень выраженности альтеративных и экссудативных проявлений в различных долях и даже отдельных участках этих долей, как в облученном правом, так и необлученном левом лёгком. Схожие морфологические изменения наблюдали в сердечной (облученной) доле правого легкого, а также прилегающих к ней участках верхушечной и диафрагматической долей.

Для гистологического исследования экспериментального материала в качестве обязательных были приняты следующие методические условия:

- исследование тотальных срезов, проходящих через все доли облученного правого легкого и через все необлученное левое легкое, что позволяло учесть неравномерность реакции различных участков органа;
- изучение серийных срезов, обеспечивающее учет неравнозначности изменений ткани, связанных с различиями распределения дозы облучения по глубине.

Для обеспечения необходимой стандартизации материала И информативности одним из условий приготовления гистологических препаратов BO всех сериях опытов было получение тотальных срезов В строго ориентированных плоскостях. Преимущественными являлись переднезадние горизонтальные (по отношению к естественному положению животного) плоскости, поскольку серийные срезы в этом случае включали различные структурно-функциональные участки.

2.4.1. Гистологическое и гистохимическое исследование

Образцы лёгких полученные при секционном исследовании, и легкие экспериментальных животных фиксировали в течение 24-48 часов в 10% растворе нейтрального формалина на фосфатном буфере. После фиксации гистологическую проводку биологических образцов выполняли по стандартной методике в автоматическом режиме с использованием гистологического процессора Pathos Delta (Milestone, Италия). Последующую заливку в парафин выполняли с помощью Leica HistoCore (Leica, Германия). Для приготовления серийных срезов использовали ротационный микротом Thermo Fisher Scientific HM 325 (Thermo Fisher Scientific, США). Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, по Маллори, эластиновые волокна резорцинфуксином по Вейгерту, альциановым синим и осуществляли PAS-реакцию.

2.4.2. Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимическое исследование для идентификации булавовидных клеток (ранее клетки Клара [108, 199]) проводили с использованием антител к экспрессируемому ими белку СС16 [96, 206, 213]. Заключенные в парафин образцы

44

легочной ткани подвергались серийной дорезке с приготовлением 5 µm срезов с последующим выполнением анализа в следующей последовательности:

- поместить срезы в термостат (65⁰C) на время от 1 до 2 часов;
- депарафинизация последовательным прохождением в растворах ксилола I и ксилола II – 30 мин, регидратирование в серии спиртов нисходящей концентрации (100%, 100%, 95%, 80%, 70%) по 10 мин.;
- промыть в дистиллированной воде 10 мин.;
- поместить в микроволновую печь емкости с рабочим раствором цитрата натрия (pH=6.0, 0.01 M);
- нагревание буферного раствора в микроволновой печи на сильной мощности до кипения;
- отключить нагрев на 8 минут, а затем снова нагреть на слабой мощности в течение 3-х минут;
- удалить жидкость и дать срезам остыть;
- срезы дважды промыть дистиллированной водой;
- промыть срезы трижды в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS)
 по 3 минуты;
- инкубировать в растворе для блокирования эндогенной пероксидазы в течение 10 минут при комнатной температуре и трижды промыть в PBS по 3 минуты;
- удалить остатки жидкости, покрыть срезы раствором блокирующей сыворотки объемом 200 мкл на образец, инкубировать в течение 20 минут при комнатной температуре;
- инкубировать с первичными антителами (мышиные моноклональные антитела к CC16 MAA857Hu21 в разведении 1:200 (производитель CLOUD-CLONE CORP. (CCC, USA)) объемом 60 мкл на стекло при температуре 37⁰С в течение 1 часа;
- трехкратная промывка срезов PBS по 3 минуты каждый;

- инкубировать срезы с рабочим раствором Стрептавидин-НRР (около 100 мкл) на срез в течение 30 минут при 37°С;
- трехкратная промывка срезов PBS по 3 минуты каждый;
- для окрашивания срезов ткани инкубировать срезы с рабочим раствором DAB при комнатной температуре длительностью от 5 секунд до 5 минут;
- промыть срезы в дистиллированной воде;
- обработать срез гематоксилином в течение 2-х минут;
- добавить 1% раствор соляной кислоты на 1 секунду и сразу промыть раствором PBS;
- дегидрататировать и заключить под покровное стекло.

Цифровые снимки с иммуногистохимических препаратов получили с помощью микроскопа Zeiss Axio Scope.A1 и камеры Axiocam 105. Оценку иммуногистохимической реакции выполнили количественным методом на базе программы ImageJ в ручном режиме при увеличении ×200. Для этого определяли число положительно окрашенных клеток в эпителии бронхиол, альвеолярных ходов и альвеол на 100 клеток эпителиальной выстилки или альвеолоцитов.

2.4.3. Электронномикроскопическое исследование

Образцы ткани, полученные в эксперименте из субплевральных и интрапульмонарных участков верхушечной, сердечной, диафрагматической и добавочной долей правого легкого и аналогичных участков левого легкого объемом ~ 1 мм³, фиксировали в 2,5% растворе глютаральдегида на фосфатном буфере (pH=7,4) при комнатной температуре в течение 1,5 часов, промывали несколькими порциями того же буфера в течение 30 минут. Дофиксировали в 1% растворе тетроксида осмия на фосфатном буфере в течение 1,0-1,5 часов при температуре +4 - +6°C. Обезвоживание выполняли в спиртах восходящей концентрации (от 50° до 96°) и нескольких порциях эфира, заливали в аралдит. Для

окраски полутонких срезов использовали метиленовый синий. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца.

Визуализацию структуры тканей в ультратонких срезах проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа Zeiss EVO LS10 (Zeiss, Германия) с установленным детектором для просвечивающей микроскопии (STEM). Изображения получали в режиме высокого вакуума, без предварительного напыления образца, при ускоряющем напряжении 21,5 кВ и токе на образце 14-80 πA (катод LaB₆). Оптимальная контрастность изображения, разрешение и устойчивость образца к пучку достигались при рабочем отрезке 4-5 мм. Для визуализации микротопографии поверхности образцы ткани, изъятые во время секции и соответствующие сроки эксперимента, размерами 10×10×3 мм, помещали в герметичный контейнер с раствором глутарового альдегида на нейтральном фосфатном буфере. После суточной экспозиции в глутаровом альдегиде каждый блок ткани независимо обезвоживали. Для чего проводили по батарее водных растворов этанола от 40% до «абсолютного спирта» со ступенью 20% и экспозицией не менее 6 часов в каждой концентрации. После этого на один час каждый блок помещали в ацетон, а затем – переносили в камеру углекислотного высушивателя Balzers CPD 030 (Balzers, Bal-Tec, Лихтенштейн) для окончательной дегидратации. После обезвоживания блоки ткани размещали на предметном столике микроскопа поверх адгезивной углеродной ленты и напыляли сплавом Au-Pd с помощью плазменного напылителя Quorum SC7620 (Quorum, США). Визуализацию микротопографии поверхности осуществляли на сканирующем электронном микроскопе Zeiss EVO LS10 (Zeiss, Германия). Изображения получали в режиме высокого вакуума посредством детектора вторичных электронов, при ускоряющем напряжении 20 кВ, токе на образце 14-40 пА (катод LaB_6) с цифровым разрешением до 9 нм на точку.

2.4.4. Морфометрическое исследование

Для выполнения морфометрического исследования выполнили сканирование гистологических препаратов с использованием сканеров Pannoramic MIDI (3DHISTECH Ltd, Венгрия) и Aperio AT2 (LEICA MICROSYSTEMS, Германия), объективы: ×20 Carl Zeiss и 20×/0.75 PlanApo соответственно. Просмотр, а также выбор и разметку участков для анализа производили при помощи программного обеспечения Pannoramic Viewer (3DHISTECH Ltd, Венгрия), QuPath v0.2.3 (University of Edinburgh, Великобритания) [53]. Морфометрическое исследование полных цифровых снимков гистологических препаратов (ЦСГП) осуществляли с использованием программы NIH ImageJ версия 1.52a (National Institutes of Health, США) с дополнительными плагинами [174, 165, 175].

Для стандартизации показателей во всех вариантах исследования в качестве объекта для морфометрии использовали кардиальную долю правого легкого лабораторных животных в обеих группах (эксперимент и контроль). На секционном материале измерения сделали с фрагментов лёгких, расположенных в участках прижизненно диагностированных ателектазов и соседствующих с ними. В морфометрическом исследовании придерживались методов, изложенных в монографии Г.Г. Автандилова, Э. Вейбеля и др. [2, 97, 170, 197].

На цифровых снимках гистологических препаратов, полученных с кардиальной доли правого лёгкого лабораторных животных, измеряли следующие структуры:

- толщина межальвеолярных перегородок (МАΠ, μm);
- площадь альвеол (ПА, µm);
- площадь внутреннего просвета бронхиолы (Бвнутр. площадь.), µm;
- периметр внутреннего просвета бронхиол (Б_{Внутр.периметр}), μm;
- площадь бронхиолы по внешней границе мышечной стенки (Б_{Наружная площадь}), µm²;
- наружный (внешний) периметр бронхиолы (Б_{Наружный периметр}) μm;
- доля легочного интерстиция (безвоздушных) участков (%);

- высота эпителиальной выстилки (ВЭ) бронхиол в расчете на 1 µm периметра базальной мембраны;
- площадь эпителиальной выстилки (ΠЭВ) бронхиол в расчете на 1 μm периметра базальной мембраны;
- площадь ателектазов, µm²;
- площадь кардиальной доли правого лёгкого, µm²;

Основываясь на результатах вышеперечисленных измерений, дополнительно произвели расчет следующих показателей:

- процент сокращения гладких миоцитов в стенке бронхиолы (ПСГМ, %);
- соотношение площади ателектаза к площади кардиальной доли правого лёгкого (%).

На секционном материале измеряли следующие структуры:

- толщина межальвеолярных перегородок (МАП);
- площадь альвеол;
- высота эпителиальной выстилки бронхиол;
- площадь эпителиальной выстилки бронхиол;
- доля легочного интерстиция (безвоздушных) участков (%);
- процент сокращения гладких миоцитов в стенке бронхиолы (ПСГМ), %.

Для определения толщины межальвеолярных перегородок (МАП) и площади альвеол (ПА) на ЦСГП предварительно выполнили разметку полученного изображения горизонтальными линиями (Рисунок 4А, Рисунок 4Б) с целью объективизации измерений.

При помощи манипулятора «мышь» персонального компьютера в ручном режиме измеряли альвеолы, находящиеся на пересечении с линиями разметки. Толщину МАП определяли посредством инструмента «straight line» («измерительная линейка»). Для измерения ПА использовали «Freehand section» («инструмент для свободного рисования»), в этом случае выполняли обводку альвеолы по внутренним границам. Аналогичный функционал программы

использовали для измерения высоты и площади эпителиальной выстилки бронхиол, определения площади ателектазов и общей площади кардиальной доли правого лёгкого (Рисунок 5А).



Рисунок 4 - Определение толщины МАП и ПА на основе разметки в виде параллельных линий. Измерения в участках пересечения проведенной линии с анатомическими структурами (альвеола, МАП). А - увеличение ×50. Б - увеличение ×100

Определение соотношения безвоздушных и воздушных участков на цифровых снимках гистологических препаратов лёгких выполняли в несколько этапов (Рисунок 5 Б-Г), включающих преобразование отсканированного цветного изображения в черно-белое (формат 8-bit), дальнейшей его сегментации на равные по площади участки по 10000 µm² и последующей классификации изображения на 2 класса (безвоздушные – красные, воздушные – белые) [75, 122, 169].

При выполнении этого этапа измерений из анализируемой площади вручную исключали бронхи, артерии, вены, в связи с тем, что данные участки ошибочно воспринимаются как «воздушные» [68, 172].



Рисунок 5 - Пример морфометрических измерений в программе ImageJ. А -Определение площади кардиальной доли правого лёгкого. Б – преобразованное изображение в формат 8-bit. В - сегментация на равные по площади участки. Г - определение соотношения площадей безвоздушных и воздушных участков

Для оценки процента сокращения гладких миоцитов стенке опирались на результаты ранее проведенных воздухопроводящих путей исследований James и др. [110, 82, 147, 183], в которых было установлено, что внутренний периметр бронхиолы, а также площадь её стенки являются независимыми от степени спазма величинами. Благодаря этому интересному наблюдению и исходя из предположения, что «in vivo» просвет бронхиолы представляет собой окружность, нам становится возможным определить процент сокращения гладких миоцитов в её стенке, исходя из следующих параметров:

1) результат измерения наружного периметра бронхиолы на гистологическом препарате;

2) вычисленное значение наружного периметра бронхиолы в полностью расслабленном состоянии.

С учетом этого, формула для расчета показателя ПСГМ в стенке бронхиолы принимает следующий вид:

(Бнаружный периметр в расслабленном состоянии–Бнаружный периметр в состоянии спазма) Бнаружный периметр в расслабленном состоянии

Однако, для вычисления показателя ПСГМ в стенке бронхиолы, нам потребовалось выполнить ряд дополнительных измерений и расчетов, включающих периметры и площади бронхиолы внутри и по внешней её границе.

Методика расчета заключается в следующем. Длина линии, проведенной по апикальной поверхности эпителиальной выстилки бронхиолы, является внутренним периметром бронхиолы (Б_{Внутр.Периметр}), а участок, находящийся внутри этой границы, представляет собой внутреннюю площадь бронхиолы (Б_{внутр площадь}.) (Рисунок 6А, Рисунок 6Б). Длина линии, проведенной по внешней границе мышечной стенки бронхиолы, представляет собой наружный (внешний) периметр бронхиолы (Б_{наружный периметр}), а площадь внутри этой границы – наружная площадь бронхиолы (Б_{наружная площадь}).

Определение площади бронхиолярной стенки выполняли вычитанием из наружной площади бронхиолы её внутренней площади:

Дальнейший ход расчётов, хоть и представляется достаточно трудоемким, позволяет нам определить неизвестный показатель, а именно наружный периметр бронхиолы в расслабленном состоянии. Первым этапом, исходя из внутреннего периметра бронхиолы («в состоянии спазма») измеренного на предыдущих шагах, становится возможным вычислить её площадь в расслабленном состоянии по следующей формуле:

Б_{Внутр.пл.расслаб.} =
$$\frac{(БВнутр.Периметр)^2}{4\pi}$$
 (3)



Рисунок 6 А - Определение внутреннего периметра бронхиолы (Б_{Внутр.Периметр}) и внутренней площади (Б_{внутр.площадь}) по апикальной границе эпителиальной выстилки (площадь внутри границы выделенной желтым цветом), увеличение. ×100. Б - Наружный периметр (Б_{Наружный периметр}) и наружная площадь (Б_{Наружная площадь}) бронхиолы по внешней границе мышечного слоя, увеличение ×100

Напомним, что в исследованиях, выполненных James и др. [110], установлено, что площадь бронхиолярной стенки является независимой от степени спазма величиной. Отсюда следует вывод, что вычислить наружную площадь бронхиолы в расслабленном состоянии можно как сумму внутренней площади бронхиолы в расслабленном состоянии и площади бронхиолярной стенки:

 $\mathbf{B}_{\text{Наруж.площадь.бронхиолы.расслаб.}} = (\mathbf{B}_{\text{Внутр.пл.расслаб.}}) + (\mathbf{B}_{\text{площадь стенки}})$ (4).

Далее, наружный периметр бронхиолы в расслабленном состоянии вычисляем по формуле:

 $\mathbf{B}_{\text{наружный периметр в расслабленном состоянии}} = \sqrt{4\pi * Бнаруж. площадь. бронхиолы. расслаб. (5)}$

Таким образом, в результате вышеприведенных формул, с помощью показателя ПСГМ в стенке бронхиолы нам становится доступной количественная оценка величины её сокращения.

2.5. Метод рамановской спектроскопии

Раман-флуоресцентное исследование, сочетавшее в себе как флуоресценцию, так и спектроскопию комбинационного рассеяния, проводили с помощью программно-аппаратного комплекса – анализатора, состоящего из микроскопа Olympus и спектрометра ИнСпектр R532, разработанного ООО «ИнСпектр» (РУ №РЗН 2015/2419 от 18.05.2015).

Длина волны лазерного изучения (532 нм), размер лазерного пятна в фокусе (10 мкм в диаметре) и мощность лазера (10 мВт) были стандартными; их постоянство и стабильность обеспечивались техническими характеристиками программно-аппаратного комплекса. Управление прибором, регистрацию и запись спектров производили с помощью специальной компьютерной программы ИнСпектр, также разработанной сотрудниками ООО «ИнСпектр» (г. Черноголовка).

Программа осуществляла идентификацию химических веществ, соединений и отдельных молекул и регистрировала изменения их количественного и качественного состава при различных состояниях, а в нашей работе – в изучаемых Полученные данные, будучи по своей сути многомерными и группах. мультипараметрическими (длина волны рассеянного излучения, интенсивность флуоресценции и рамановского рассеяния), анализировали с использованием метода дискриминантного анализа с помощью проекции на латентные структуры (PLS-DA). Суть метода состояла в том, что дискриминационные правила для Из классов были заланы линейными регрессионными уравнениями. регистрируемых данных, интенсивности раман-флуоресцентных спектров на определенных сдвигах волн, составляли матрицу, где каждому образцу присваивали значение 0 или 1, в зависимости от срока эксперимента. Регрессионную задачу решали методом проекций на латентные структуры, что позволило в дальнейшем предсказывать принадлежность новых образцов. Также PLS-DA позволил выявить спектральные особенности для классов, связанных с наличием соединений и молекул, определяемых в качестве специфических для

54

данной патологии маркеров, находившихся в ткани лёгкого. Перед применением метода PLS-DA регистрируемые данные были избавлены от шума методом Савицкого-Голея [98] и фонового излучения методом коррекции опорной линии с использованием ассиметричных наименьших квадратов [51, 132].

2.6. Статистическая обработка результатов исследования

Статистическую обработку результатов исследования выполнили при помощи специализированного программного обеспечения: R-4.0.4 (The R Foundation, Вена, Австрия), RStudio Desktop (Version 1.3.1093, RStudio Inc, CША) с подключением дополнительных пакетов, предназначенных для описательной статистики, регрессионного анализа, а также визуализации полученных данных.

Для проверки распределения использовали тест Шапиро-Уилка, результаты которого показали распределение выборки, отличного от нормального. В связи с этим, описательная статистика представлена в виде медианы, квартилей (Q₁, Q₃), межквартильного размаха, минимального и максимального значений.

Результаты морфометрических измерений представлены диаграммами Тьюки («*ящичная диаграмма*»), особенностью которых является максимальная наглядность полученных данных в графическом виде. При этом, границы «ящика» показывают первый и третий квартили, линия в середине - медиана. Концы «усов» - края статистически значимой выборки, отдельными точками показаны выбросы.

Для оценки достоверности различий использовали тесты Вилкоксона, Краскела-Уоллес. Различия между выборками считали статистическими достоверными при P-value<0,05.

Полученные результаты измерений экспериментальной группы лабораторных животных сравнивались с результатами объединенной контрольной группы в связи с тем, что значимых различий между сроками эксперимента в контрольной группе не выявили.

Влияние количественных переменных, а именно: толщины МАП, площадь эпителиальной выстилки, процент сокращения гладких миоцитов в бронхиолах, на возникновение ателектазов в различные сроки эксперимента, оценивали с использованием логистической регрессии [209, 153]. Суть указанного статистического приема состоит в моделировании вероятности наступления определенного события в зависимости от исходных количественных данных. Результат вычисления регрессионной функции является дихотомическим или бинарным, то есть принимает два возможных значения (1 или 0, истина/ложь, болен/здоров, есть ателектаз/нет ателектаза).

В рамках рассматриваемой нами задачи вероятность (**p**) возникновения ателектазов лёгких будет определяться по следующей формуле:

$$p = \frac{1}{1+e^z} (6)$$

где:

е - это основание натурального логарифма $\approx 2,72;$

z - стандартное уравнение регрессии вида:

$$\beta_0 + \beta_1 x_{1i} + \dots + \beta_p x_{pi}.$$

где:

β_{*p*} являются коэффициентами регрессии, расчет которых и является задачей логистической регрессии,

 x_{pi} — значения независимых переменных, в данном случае морфометрических показателей, а β_0 представляет собой константу.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поскольку морфологические проявления, а в эксперименте и морфогенез фиброзирующих альвеолитов, возникающих в легких при радиоиндуцированном повреждении, довольно детально изучены предшествующими фундаментальными исследованиями, нами было принято решение насколько это представлялось возможным уйти от излишней детализации изложения материала и представить динамику структурных изменений легочной ткани в виде периодов-блоков, представляющих собой морфологически завершенный в количественном и качественном отношении комплекс изменений легочной ткани, позволяющих на наш взгляд, всесторонне и более объективно изложить морфогенез ателектазов при РИПЛ.

3.1 Морфогенез ателектазов при радиоиндуцированном повреждении легких в эксперименте

Морфогенез ателектазов при экспериментальном радиоиндуцированном повреждении представлен в виде последовательных периодов, обозначенных нами как:

 формирование инициальных (фоновых) предателектатических изменений в легких;

2) реализация лучевых альтераций в субплевральных отделах легкого, формирование субплевральных монофакторных ателектазов;

3) реализация лучевых альтераций в интрапульмонарных отделах легкого, формирование интрапульмонарных мультифакторных ателектазов;

4) персистенция и трансформация структурных изменений в лёгких, формирование векторов эволюции ателектазов;

5) формирование фиброателектазов, восстановление воздушности лёгочной ткани.

3.1.1. Формирование инициальных (фоновых) предателектатических изменений легочной ткани (1-3 сутки опыта)

При изучении тотальных (кристеллеровских) срезов, гистологических препаратов и полутонких срезов по истечении первых суток не было отмечено сколько-нибудь выраженных отчетливых изменений легочной паренхимы и воздухопроводящих путей. При электронномикроскопическом исследовании эндотелиоциты капилляров альвеолярных септ выглядели несколько набухшими, их цитоплазма содержала умеренное количество пиноцитозных пузырьков (везикул) (Рисунок 7 А,Б).



Рисунок 7 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 1 сутки. А – выраженное набухание эндотелия (ЭН), резкое уменьшение количества органелл. В просвете капилляров (КАП) агглютинированные эритроциты и тромбоциты. Альвеолоциты II типа (АП) относительно сохранны. ТЭМ х 15000; Б - Набухание эндотелиоцита (ЭН) альвеолярной септы. Пиноцитоз в эндотелии. Просвет капилляра (КАП) расширен (ЭР – эритроцит). Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) ×20000

В некоторых эндотелиоцитах проявления пиноцитоза были минимальными, либо вовсе отсутствовали, в них наблюдали участки просветления цитоплазмы с идентификацией элементов цитоскелета. В отдельных случаях эти изменения сопровождались полнокровием капилляров. В альвеолоцитах II типа выявили умеренное набухание митохондрий, нарушение расположения и упорядоченности мембран осмиофильных пластинчатых телец. Данные изменения превалировали в образцах легочной ткани, полученных из субплевральных отделов облученной (кардиальной) доли правого легкого животного. В жидкости бронхо-альвеолярного лаважа буквально с первых суток опыта было выявлено уменьшение суммарного содержания легочного сурфактанта и снижение содержания большинства его фракций, прежде всего, фосфатидилхолина. К исходу третьих суток на фоне сохранения воздушности легочной ткани, идентифицируемой на тотальных срезах, наблюдали усиление полнокровия легочной ткани как в субплевральных, так и интрапульмонарных участках легкого (Рисунок 8).



Рисунок 8 - Радиоиндуцированное повреждение легких – 3 сутки. Мозаично расположенные субплевральные и интрамуральные участки полнокровия легочной паренхимы. Окраска гематоксилином и эозином, ×10

На этом фоне было отмечено появление мелких фокусов диапедезных кровоизлияний, отека интерстиция, что сопровождалось утолщением межальвеолярных перегородок. На ультраструктурном уровне изменения сосудистой и клеточной составляющих отличались большим разнообразием. Большинство капилляров имели расширенный просвет и содержали, помимо эритроцитов, другие форменные элементы крови, включая тромбоциты. В капиллярах также наблюдали явления стаза, сладжа, гемолиза эритроцитов, что сопровождалось усилением электронной плотности плазмы крови.

В эндотелиоцитах преобладали альтеративные изменения, морфологическим выражением которых мы сочли уменьшение количества органелл, снижение

электронной плотности самих эндотелиоцитов, просветление субэндотелиального слоя, слущивание эндотелиоцитов с обнажением базальной мембраны. Пространство между капиллярами и эпителиоцитами альвеол было расширено, за счет отека интерстиция выглядело электронно-прозрачным (Рисунок 9).



Рисунок 9 - Радиоиндуцированное повреждение легких 3 сутки. Полнокровие капилляров, уменьшение пиноцитоза. (ЭР – эритроциты). Отек интерстициального пространства (ИП) ТЭМ ×20000

Значительная часть альвеолоцитов I типа оказалась очень чувствительной к воздействию ионизирующего излучения и находилась в состоянии вакуольной дистрофии. В альвеолоцитах II типа наибольшие изменения наблюдали в ОПТ (Рисунок 10). Они заключались в том, что осмиофильные мембраны утрачивали присущее им концентрическое или горизонтальное расположение, фрагментировались и трансформировались в аморфные электронно-плотные конгломераты. У некоторых АII была разрушена апикальная часть, что приводило к появлению в просвете альвеол их фрагментов, преимущественно, ОПТ в виде решетчатых комплексов и миелиновых фигур.



Рисунок 10 - Радиоиндуцированное повреждение легких – 3 сутки. Опустошение ОПТ в альвеолоцитах II типа. Полнокровие капилляров МАП, повышение электронной плотности плазмы крови. ТЭМ ×12000

Суммарное содержание фосфолипидов лёгочного сурфактанта в жидкости БАЛ достигло своего минимума к 3-им суткам, явившиеся завершением инициального периода (Рисунок 11).



Рисунок 11 - Динамика суммарного содержания фосфолипидов лёгочного сурфактанта в легком лабораторных животных в различные сроки эксперимента (* - P<0,05,** - P<0,01, *** - P<0,001)

Спектроскопическое исследование образцов легочной ткани выявило высокие значения интенсивности как инициальной, так и остаточной флуоресценции и умеренные значения рамановского сдвига, обусловленные повышенным содержанием в ткани свободных гидроксильных и метильных радикалов, а также отдельных гидроксильных групп (Рисунок 12).



Рисунок 12 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 3 сутки. Раманфлуоресцентный спектр легочной ткани. Локальный максимум флуоресценции обозначен красной пунктирной линией и соответствует флуоресценции различных активных форм кислорода (АФК)

Их концентрация была максимальной в субплевральных отделах и минимальной – в интрапульмонарных.

3.1.2. Реализация лучевых альтераций в субплевральных отделах легкого, формирование субплевральных, преимущественно монофакторных, ателектазов (4 – 7 сутки опыта)

Прогрессирование лучевых альтераций, а также полнокровия артериол, венул и капилляров альвеолярных септ были отмечены, как на тотальных срезах, так и в отдельных фрагментах легочной ткани. Реализация расстройств кровообращения происходила фоне часто на изменения толщины межальвеолярных перегородок проявлялась развитием диапедезных И

кровоизлияний и сосредоточением серозно-геморрагического экссудата в просвете альвеол.

Необходимо выделить следующее, что в контрольной группе лабораторных животных (не подвергавшихся облучению), в соответствующий срок эксперимента (7 сутки) ателектазов не зафиксировали. Однако, в группе животных, подвергнутых воздействию рентгеновского излучения, в кардиальной доле у четырёх крыс (в 14,3%) идентифицировали ателектазы, распложенные субплеврально (Таблица 2). При этом, соотношение суммарной площади ателектатических участков по отношению к площади кардиальной доли составило 8,2% (Таблица 3).

Таблица 2 - Число лабораторных животных экспериментальной группы с идентифицироваными ателектазами на 7-е сутки эксперимента

	7 сутки		
	n	%	
Субплевральные ателектазы	4	14,3%	
Интрапульмонарные ателектазы	0	0%	
Без ателектазов	24	85,7%	
Всего	28	100%	

Таблица 3 - Показатели общей площади кардиальной доли правого лёгкого, площади зарегистрированных ателектазов и их соотношение, в экспериментальной группе лабораторных животных на 7-ые сутки эксперимента

Срок эксперимента	n	Площадь кардиальной доли правого легкого тыс. (медиана) µm ²	Медианное значение суммарной площади ателектазов тыс. µm ²	Соотношение суммарной площади ателектазов к площади кардиальной доли правого легкого
7 сутки	4	31 076	2 548	8,2%

Поскольку ни в одном случае мы не наблюдали спадения целого легкого (тотальный ателектаз) или его доли (долевой ателектаз), в зависимости от территории легочной ткани, вовлеченной в процесс спадения, ателектазы были разделены нами на линейные, очаговые и распространенные. В случае линейных ателектазов последние имели вид полоски легочной ткани, расположенной непосредственно под плеврой, идущей параллельно ей и не распространяющейся вглубь легкого (Рисунок 13).



Рисунок 13 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 2 период. Линейный ателектаз, расположенный в кардиальной доле экспериментального животного. Окраска гематоксилином и эозином ×10

При очаговых ателектазах помимо вышеописанных изменений имело место частичное распространение ателектаза в дистальном направлении и некоторое увеличение площади посредством добавления к территории ателектаза значительной части альвеол и названной нами «ателектатическим полем» (Рисунок 14).



Рисунок 14 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 2 период. Очаговый дистелектаз, расположенный под плеврой и распространяющийся в дистальном направлении (интрапульмонарно). Окраска гематоксилином и эозином ×100

Распространенные ателектазы характеризовались значительно большей площадью ателектатического поля И векторов наличием нескольких 15). распространения В (Рисунок одном случае ателектатическое поле прогрессировало апикально по направлению к верхушечной доле, в другом каудально по направлению к диафрагматической, либо добавочной доле правого легкого. Третий вариант прогрессирования ателектаза с приобретением последним распространенного вида заключался в его «продвижении» в дистальном, медиальном, интрапульмонарном направлении.



Рисунок 15 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 2 период. Многовекторный распространенный ателектаз. Окраска гематоксилином и эозином ×10

Наконец, к распространенным субплевральным ателектазам нами были отнесены и ателектазы с типичным расположением, но распространяющиеся как в апико-каудальном, так и интрапульмонарном направлениях. Для этой группы ателектазов были характерны следующие особенности: во-первых, значительная (большая) часть ателектатического поля была расположена под плеврой, и последняя представляла собой его наружную границу, во-вторых, среди субплевральных ателектазов мы наблюдали как сплошные, собственно ателектазы, так и несплошные (дистелектазы), содержащие более или менее значительное количество воздухсодержащих пространств (полостей). При электронномикроскопическом исследовании выявлено прогрессирование альтеративных изменений АІ и АП в виде уменьшения количества и слущивания АІ, что сопровождалось «оголением» базальной мембраны и идентификацией в просвете альвеол альвеолоцитов, фрагментов цитоплазмы и отдельных органелл, включая ОПТ, содержащих аморфный электронноплотный материал (Рисунок 16).



Рисунок 16 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 2 период. Деструкция и слущивание А II, в просвете альвеолы рыхлое аморфное электронноплотное содержимое. Гомогенизация содержимого осмиофильных пластинчатых телец (ОПТ). ТЭМ ×15000

В интерстиции альвеолярных септ, в расширенных пространствах между мембранами капилляров и альвеолоцитов на фоне сохраняющегося отека, что проявлялось наличием электроннопрозрачных пространств, выявили появление лимфоидно-макрофагального инфильтрата и практически отсутствие полиморфноядерных лейкоцитов. В эндотелиоцитах отметили сохранение отека и явлений пиноцитоза, хотя и меньшей интенсивности по сравнению с предыдущим периодом.

Результаты морфометрической оценки, терминальных как воздухопроводящих путей так и ацинарных структур лёгких крыс в разные сроки после воздействия ИИ, показали ряд особенностей, не наблюдающихся у контрольной (необлученной) группы лабораторных животных. Во-первых, толщины межальвеолярных перегородок $(MA\Pi)$ было изменение разнонаправленным в субплевральных и интрапульмонарных участках. Иными словами, на 7-ые сутки эксперимента, наблюдали снижение толщины МАП в субплевральных участках, зафиксировали но при этом подъем в интрапульмонарных. Во-вторых, обнаруженные морфометрические изменения толщины МАП и ПА у экспериментальных животных с идентифицированными ателектазами носили более выраженный характер, чем без таковых. В-третьих, сокращения гладких миоцитов В стенке бронхиол (ПСГМ) в процент интрапульмонарных участках превысил значения, наблюдаемые в субплевральных вне зависимости от наличия ателектаза (Таблица 4, Приложение 1, Приложение 2, Приложение 3, Приложение 4, Приложение 5).

Покязятели	Контроль		7 сутки			
HUKASALCIH			С ателектазами		Без ателектазов	
	Субплевр.	Интрапульм.	Субплевр.	Интрапульм.	Субплевр.	Интрапульм.
Толщина МАП μm,	6,2	6,4	5,1	9,8	5,9	8,5
ΠA μm ²	770	640	456	641	758	632
ПСГМ в стенке	17.7	18.0	20.8	21.3	20.5	21.4
бронхиол, %	, .		, _			,
ВЭ (μm) на 1 μm	0.025	0.025	0.026	0.026	0.026	0.026
периметра по БМ	0,025	0,025	0,020	0,020	0,020	0,020
ПЭВ (µm²) на1 µm	16.1	16.5	18.2	17.5	18.6	17.7
периметра по БМ	10,1	10,5	10,2	17,5	10,0	17,7

Таблица 4 - Результаты морфометрии кардиальной доли правого лёгкого в контроле и на 7-е сутки эксперимента у лабораторных животных

Согласно полученным результатам, в субплевральных участках и при наличии ателектазов, толщина МАП снизилась с 6,2µm до 5,1µm (P=8,9e-09), однако в интрапульмонарных произошел рост с 6,4 µm до 9,8 µm (P=1,6e-14). В том случае, если ателектазов не наблюдали, толщина МАП составила 5,9 µm в субплевральных и 8,5 µm в интрапульмонарных. Дальнейший анализ показал статистически значимые различия толщины МАП между группами с идентифицированными ателектазами и без таковых (P=1,6e-06 в субплевральных участках; в интрапульмонарных P=0,00049) (Рисунок 17).



Рисунок 17 - Толщина межальвеолярных перегородок (МАП), µm (рисунок А) и площадь альвеол (ПА) (µm²) кардиальной доли правого лёгкого лабораторных животных на 7-ые сутки эксперимента, в контрольной и опытных группах, с учетом идентификации ателектазов (АТ)

ПА при наличии ателектазов снизилась в субплевральных участках с 770 μ m² до 456 μ m² (P=2,7e-10), но при этом изменений в интрапульмонарных участках не зафиксировали, в контроле 640 μ m² до 641 μ m² на 7-ые сутки (P=0,09).

Следует обратить внимание на то обстоятельство, что изменения воздухопроводящих путей, расположенных в участках ателектазов и

дистелектазов, а также непосредственной близости с ними, не были зарегистрированы нами на светооптическом уровне. Но в целом, тенденция к лимитированию просвета бронхиол в кардиальной доле правого лёгкого наблюдалась у всех животных, подвергнутых воздействию ИИ, вне зависимости от того, наблюдались ателектазы или нет.

морфометрических измерений показателей Результаты отражающих величину лимитирования просвета воздухопроводящих путей (ПСГМ, ПЭВ), показали достаточно схожий паттерн изменений (Рисунок 18А, Рисунок 18В). Так, ПСГМ идентифицированными В группе животных с ателектазами В субплевральных участках увеличился с 17,7% (в контроле) до 20,8% (Р=0,02), а при отсутствии ателектазов, ПСГМ достиг 20,5% (Р=0,088). В интрапульмонарных участках и при наличии ателектазов рост ПСГМ произошёл с 18,0% (в контроле) до 21,3% (P<0,001), а в случае отсутствия ателектазов ПСГМ достиг 21,4% (P<0,0062).



Рисунок 18 А - Процент сокращения гладких миоцитов в стенке бронхиол (ПСГМ), %. В - Площадь эпителиальной выстилки (µm²), кардиальной доли правого лёгкого лабораторных животных на 7-ые сутки эксперимента, в контрольной и опытных группах с учетом идентификации ателектазов (AT)

Так, в группе с ателектазами, рост ПЭВ составил 13%, в абсолютных цифрах с 16,1 (µm² в расчете на 1µm периметра бронхиолы) до 18,2 в субплевральных участках (P=0,0018). В интрапульмонарных участках рост на уровне 6%, с 16,5 до 17,5 (P=0,0086). Но что интересно, результаты измерений ПЭВ в группе без ателектазов превышали значения, зафиксированные в группе с ателектазами, достигнув величин 18,6 в субплевральных и 17,7 в интрапульмонарных участках.

Интересные результаты были получены при внутригрупповом сравнении показателей морфометрии ПСГМ и ПЭВ у облученных животных. В зависимости от фактора ателектаза, различия в ПЭВ были несущественны в интрапульмонарных участках (P=0,63), и оказались практически на границе статистической значимости в субплевральных (P=0,46). Далее, ПСГМ не показал значимых отличий ни в субплевральных, ни в интрапульмонарных участках, в связи с тем, что полученные результаты оказались выше заданного уровня значимости и составили P=0,71 и P=0,65 соответственно.

Таким образом, на основании полученных результатов мы можем сделать предварительный вывод, что лимитирование просвета воздухопроводящих путей у облученных животных на 7-ые сутки эксперимента не имеет статистически значимых различий в группе с ателектазами и без таковых.

Динамика суммарного содержания фосфолипидов лёгочного сурфактанта продемонстрировала рост на 50% в сравнении с 3-ми сутками эксперимента (Рисунок 11) и даже превысила показатели контрольной группы. Однако, при изучении фракционного состава фосфолипидов СТ отметили сохраняющийся дисбаланс в виде снижения фракций дифосфатидилглицерола (кардиолипина), фосфатидилглицерина и фосфатидилэтаноламинов (Рисунок 19).


Рисунок 19 - Фракционный состав ФЛ ЛС в различные сроки эксперимента Примечание: ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СМ – сфингомиелин, ФС – фосфатидилсерин, ФИ – фосфатидилинозит, ФХ – фосфатидилхолин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ФГл – фосфатидилглицерин, КЛ – кардиолипин, НФЛ – неидентифицированные фосфолипиды

В соответствии с целью данного исследования, мы составили модель взаимодействия количественных факторов и ателектазов лёгкого. В качестве объясняемой переменной был выбран факт идентификации ателектазов, а в качестве объясняющих переменных (предикторов) выбрали толщину МАП, процент сокращения гладких миоцитов площадь альвеол, И площадь эпителиальной выстилки бронхиол (Таблица 5). Следует уточнить, что в данную модель мы не включили такой показатель, как высота эпителиальной выстилки бронхиол, по причине явной прямой линейной взаимосвязи с другим предиктором, а именно - площадь эпителиальной выстилки.

Коэффициенты	циенты Оценка Станда		Z	Уровень
		ошибка	значение	значимости
				Р
Интерсепт	0,483	1,943	0,249	0,804
ПСГМ, %	-0,075	0,056	-1,328	0,184
ПЭВ, µm ²	0,017	0,067	0,261	0,794
Толщина МАП, µm	-0,109	0,087	-1,254	0,210
ΠA, μm ²	0,002	0,001	2,099	0,036

Таблица 5 - Результаты расчета коэффициентов, включенных в модель логистической регрессии (7 сутки эксперимента)

Согласно полученным результатам, такие показатели, как ПСГМ, ПЭВ и толщина МАП, не являются статистически значимыми (P=0,184, P=0,794, P=0,210) и не могут рассматриваться в качестве предикторов в данной модели, но при этом ПА показала значимый уровень (P=0,036).

Процент корректных предсказываний ("accuracy") в данной регрессионной модели не превысил 60,7%. При оценке ROC кривой, AUC составил 0,66 (Рисунок 20).



Рисунок 20 - ROC-кривая оценки модели на основе морфометрических показателей (ПСГМ, толщина МАП, ПА, ПЭВ) на 7-ые сутки

Коэффициент детерминации R² составил 0,06, что позволяет сделать заключение о том, что вариация в риске возникновения ателектазов лёгких на 7-ые

сутки после воздействия ИИ, в экспериментальной группе лабораторных животных не может объясняться предикторами модели.

3.1.3 Реализация лучевых альтераций в интрапульмонарных отделах легкого, формирование интрапульмонарных, преимущественно мультифакторных, ателектазов (8-14 сутки опыта)

К 14-ым суткам эксперимента в облученной доле правого лёгкого обнаружили ряд отличий по сравнению с 7-ыми сутками. Во-первых, ателектазы выявили в большем числе случаев, а именно у 11-ти животных, что составило 37,9%. Во-вторых, в 5 случаях (17,2%) присутствовали изолированные интрапульмонарные ателектазы, а в 6 случаях (20,7%) наблюдалось сочетание субплевральных и интрапульмонарных ателектазов. В-третьих, площадь ателектазов увеличилась и составила 5518 µm² (для сравнения: на 7-ые сутки этот показатель был 2548 µm²).

Соотношение суммарной площади ателектазов к площади кардиальной доли правого лёгкого возросло более, чем в 2 раза и составило 18,5%. Результаты измерений представлены в таблицах (Таблица 6, Таблица 7).

	С	роки эксг	Всего			
	-		1.4		регистрируемых	
	/ cy	ТКИ	14 c	утки	ателектазов	
	n	%	n	%	n	%
Субплевральные	4	14,3%	6	20,7%	10	17,5%
ателектазы						
Интрапульмонарные	0	0%	5	17.2%	5	8.8%
ателектазы	Ũ	070	0	17,270	J	0,070
Без ателектазов	24	85,7%	18	62,1%	42	73,7%
Всего	28	100%	29	100%	57	100%

Таблица 6 - Число лабораторных животных с идентифицироваными ателектазами на 7-е и 14-е сутки эксперимента

Таблица 7 - Значения показателей общей площади кардиальной доли правого лёгкого, площади зарегистрированных ателектазов и их соотношение, в экспериментальной группе лабораторных животных на 14 сутки эксперимента

cyrkh skenephwenra							
Срок	n	Площадь	Медианное	Соотношение			
эксперимента		кардиальнои	значение	суммарнои площади			
		доли правого	суммарной	ателектазов к			
		легкого	площади	площади			
		(медиана)	ателектазов	кардиальной доли			
		тыс. µm²	тыс. µm²	правого легкого			
14 сутки	11	29 754	5 518	18,5%			

Исследование тотальных (кристеллеровских) срезов правого легкого позволило идентифицировать «продвижение» лучевых альтераций в глубь легкого, в медиальном (дистальном) по отношению к плевре направлению. Легкое на срезе приобретало пёстрый вид за счет сохраняющихся расстройств кровообращения и появления мозаично расположенных интрапульмонарных ателектазов, перемежающихся с участками повышенной воздушности.

В большей части случаев было отмечено сочетание внутрилегочных субплевральными. ателектазов с предсуществующими В отличие ОТ которые, будучи субплевральных ателектазов, В части случаев распространенными, но все же единичными, внутрилегочные ателектазы, как правило, были более многочисленными (Рисунок 21).

Для удобства идентификации и описания данного вида ателектазов мы разделили их следующим образом: очаговые, очагово-распространенные и очагово-множественные и множественно-распространенные.

К очаговым ателектазам были отнесены немногочисленные ателектазы, обычно 2-3, с малой площадью ателектатического поля, расположенные беспорядочно в облученной (кардиальной) доле правого легкого, представленные, как правило, спадением нескольких альвеол, но неплохо идентифицируемые на тотальном срезе. К очагово-распространенным мы отнесли ателектазы, локализованные опять-таки лишь в облученной доле, но отвечающие, как минимум, двум критериям: увеличением их количества и большей по сравнению с очаговыми ателектазами площадью.



Рисунок 21 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 3 период. Множественные ателектазы и дистелектазы, расположенные интрапульмонарно. Окраска гематоксилином и эозином. ×100

Очагово-множественными мы сочли ателектазы, отвечающие вышеобозначенным характеристикам, но располагавшиеся не только в облученной кардиальной доле, но и граничащих с ней участках верхушечной и диафрагматической долей правого лёгкого (Рисунок 22).

Наконец, в группу множественно-распространенных ателектазов мы отнесли ателектазы, локализованные в больших количествах, не только во всех долях правого облученного лёгкого, включая добавочную, но и ателектазы, локализованные в контрлатеральном, необлученном левом легком.



Рисунок 22 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 3 период. Очаговомножественные ателектазы, локализованные в кардиальной и диафрагматической долях. Окраска гематоксилином и эозином ×10

Выявление специфических особенностей на ультраструктурном уровне показало, что в значительной части случаев ателектаз не выглядел полным. Просветы альвеол имели щелевидную форму и были заполнены клеточным детритом. При этом составляющие аэрогематического барьера и клетки инфильтрата легко идентифицировались (Рисунок 23).



Рисунок 23 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 3 период. Интрапульмонарный ателектаз. А II - альвеолоцит II типа; ПА – просвет альвеолы; Л – лимфоцит, ФЛ – фибробласт, КАП- просвет капилляра ТЭМ ×8660

На светооптическом уровне и, особенно, при помощи сканирующей электронной микроскопии идентифицировали изменения бронхиол в виде сужения, деформации и обтурации их просвета серозно-слизистым, местами серозно-геморрагическим содержимым (Рисунок 24, Рисунок 25 А,Б).

Как отмечалось ранее, на 7-ые сутки эксперимента на светооптическом уровне мы не отметили признаков спазма бронхиол, но результаты измерений показали, что у облученных животных, вне зависимости от наличия ателектазов, присутствовало лимитирование просвета. На 14-ые сутки, спазм бронхиол мы идентифицировали на светооптическом уровне.



Рисунок 24 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 3 период. Спазм бронхиолы с формированием перибронхиолярных ателектазов и дистелектазов. ТЭМ ×300



Рисунок 25 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 3 период. А-Серознослизистое содержимое (муцины, гликозамингликаны) в просвете бронхиолы. Окраска альциановым синим. ×200. Б- Спазм бронхиолы, обтурация просвета слизистым содержимым. PAS- реакция ×200

Результаты морфометрии зафиксировали увеличение следующих показателей: процент сокращения гладких миоцитов (ПСГМ), высота эпителия

(ВЭ), площадь эпителиальной выстилки, при этом, рост в интрапульмонарных участках был более выраженным. Результаты измерений представлены ниже (Таблица 8).

Показатели	Контроль			14-ые сутки		
			С ателектазами		Без ателектазов	
	Субпл.	Интр.	Субпл.	Интр.	Субпл.	Интр.
Толщина МАП μm,	6,2	6,4	11,0	12,3	8,3	8,9
ΠA μm ²	770	640	461	525	709	617
ПСГМ в стенке	17,7	18,0	25,6	27,0	21,0	22,1
бронхиол, %						
ВЭ (μm) на 1 μm	0,025	0,025	0,027	0,0295	0,026	0,027
периметра по БМ						
ПЭВ (µm²) на1 µm	16,1	16,5	18,2	20,5	17,6	18,4
периметра по БМ						

Таблица 8 - Результаты морфометрических показателей кардиальной доли правого лёгкого в контроле и на 14ые сутки эксперимента

Так, на 14-ые сутки при наличии ателектазов, ПСГМ составил 25,6% в субплевральных участках при (P<0,0001). В интрапульмонарных участках ПСГМ достиг величины 27,0% (P <0,0001) (Рисунок 26).

В контрольной группе лабораторных животных, ВЭ на 1 µm периметра базальной мембраны (БМ) составила 0,025, но в группе облученных этот показатель показал тенденцию к росту как на 7-ые, так и на 14-ые сутки эксперимента. Так, в субплевральных участках и при наличии ателектазов ВЭ составила 0,027 (P=0,036 по сравнению с 7-ми сутками), а в интрапульмонарных ВЭ достигла 0,029 (P<0,0001 по сравнению с 7-ми сутками). Кроме этого, результаты измерений в субплевральных и интрапульмонарных участках значимо отличались между собой с превалированием в интрапульмонарных (Рисунок 27 А).



Рисунок 26 - Процент сокращения гладких миоцитов (ПСГМ) в стенке бронхиолы. А – контрольная и экспериментальная (с ателектазами) группы на 14-ые сутки. В- результаты на 7-ые и 14-ые сутки эксперимента при наличии ателектазов



Рисунок 27 А – высота эпителия (ВЭ) и В – площадь эпителиальной выстилки на 1 µm базальной мембраны бронхиолы на 7-ые и 14-ые сутки эксперимента в участках ателектазов (АТ) в субплевральных и интрапульмонарных участках

82

Мы не зафиксировали существенных изменений площади альвеол в субплевральных участках при наличии ателектазов, по сравнению с 7-ыми сутками. Так, ПА составила 461µm² (P=0,73 при сравнении с группой животных с ателектазами на 7-ые сутки). Однако, в интрапульмонарных участках ПА значимо снизилась, достигнув медианы 525 µm² (P<0,001) (Рисунок 28 А)

В тех случаях, когда на данном сроке ателектазов не зафиксировали, ПА составила 709 μm² в субплевральных участках и 617 μm² в интрапульмонарных, оставаясь ниже значений контрольной группы (Рисунок 28 В).



Рисунок 28 - Площадь альвеол (ПА, µm²) в экспериментальной группе. А – на 7-ые и 14-ые сутки при наличии ателектазов (АТ). В – 14-ые сутки в зависимости от идентификации ателектазов (АТ)

Таким образом, к 14-м сутками эксперимента, снижение площади альвеол в ателектазированных лёгких произошло более чем на 40% в субплевральных и на 18% в интрапульмонарных участках по сравнению со значениями в контрольной группе.

Как было отмечено в результатах, на 7-ые сутки эксперимента присутствовало снижение толщины МАП в субплевральных участках и рост этого показателя в интрапульмонарных. Что интересно, на 14-ые сутки эксперимента мы во всех наблюдениях зафиксировали рост толщины МАП. При этом, при наличии ателектазов, в субплевральных участках толщина МАП составила 11,0 µm и 12,3µm в интрапульмонарных. При отсутствии ателектазов толщина МАП составила 8,3µm и 8,9 µm (Рисунок 29).



Рисунок 29 - Динамика изменений толщины МАП, µm на 7-ые и 14-ые сутки эксперимента

Анализ результатов, полученных к 14-суткам эксперимента, показывает, что помимо сохраняющегося дисбаланса фосфолипидов лёгочного сурфактанта, наблюдаются изменения в воздухопроводящих путях, а именно: увеличение процента сокращения гладких миоцитов (ПСГМ) в стенке бронхиолы и площади эпителиальной выстилки (ПЭВ) в интрапульмонарных участках. Таким образом, мы можем предположить, что в возникновении ателектазов на 14-ые сутки эксперимента у экспериментальной группы лабораторных животных принимают участие дополнительные факторы. Для проверки данной гипотезы выполнили регрессионный анализ. В модель логистической регрессии включили следующие ΜΑΠ, ΠСΓΜ, ПЭВ, толщина ΠA. объясняющие переменные: Данные представлены ниже (Таблица 9).

Коэффициенты	Оценка	Стандартная ошибка	Z значение	Уровень значимости Р
Интерсепт	14,640	3,573	4,097	4,19e-05
ПСГМ, %	-0,214	0,072	-2,974	0,00295
ПЭВ бронхиол на 1 µm периметра БМ.	0,038	0,080	0,482	0,629
Толщина МАП, μm	-1,049	0,246	-4,256	2,08e-05
$\Pi A \ \mu m^2$	-0,0001	0,001	-0,071	0,943

Таблица 9 - Результаты расчета коэффициентов, включенных в модель бинарной логистической регрессии (14-ые сутки эксперимента)

Анализируя полученные результаты логистической регрессии, можно сделать вывод, что в возникновении ателектазов на 14-ые сутки эксперимента, статистически значимым оказывается влияние нескольких факторов, не наблюдаемых ранее на 7-ые сутки эксперимента, а именно: процент сокращения гладких миоцитов в стенке бронхиолы (P=0,00295) и толщина межальвеолярных перегородок (P=2,08e-05).

При оценке данной модели логистической регрессии, процент корректных предсказываний ("accuracy") составил 86%. При оценке ROC кривой, AUC составил 0,92 (Рисунок 30).



Рисунок 30 - ROC-кривая оценки модели на основе морфометрических показателей (ПСГМ, толщина МАП, ПА, ПЭВ) на 14-ые сутки

Коэффициент детерминации R² составил 0,46, что говорит об удовлетворительном качестве самой модели, а полученная площадь AUC на 14-ые сутки выше таковой на 7-ые сутки эксперимента. С учетом этих данных, мы приходим к заключению, что вариацию в риске возникновения ателектазов к 14ым сутками можно объяснить новыми предикторами.

Исследования показали, что к 14 суткам эксперимента, помимо наблюдаемого спазма бронхиол, было отмечено увеличение числа булавовидных клеток на 100 клеток эпителиальной выстилки с 12 до 16, что проявлялось выраженной реакцией с антителами к белку СС 16, экспрессируемому ими (Рисунок 31, Рисунок 32).



Рисунок 31 - Число СС16 позитивных клеток бронхиол на 100 альвеолоцитов кардиальной доли правого лёгкого лабораторных животных на различных сроках эксперимента



Рисунок 32 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 3 период. Цитоплазматическая экспрессия белка СС 16 булавовидными клетками эпителиальной выстилки. Иммуногистохимическая реакция с антителами к СС16, ×200

Суммарное содержание фосфолипидов ЛС было незначительно увеличено по сравнению с контрольными значениями, однако количество фосфатидилэтаноламина, кардиолипина и фосфатидилглицерина были ниже контрольных. При рамановской спектроскопии спектры образцов легочной ткани имели вид правильной параболы, однако значения локального максимума и интенсивности флуоресценции, обусловленные содержанием АФК, были ниже по сравнению с предыдущим периодом.

3.1.4. Персистенция и трансформация структурных изменений в лёгких, формирование векторов эволюции ателектазов

Результаты исследования показали, что к 50-ым суткам число регистрируемых ателектазов составило 24% и не превысило значений, наблюдаемых к 14-ым суткам (Таблица 10). Отношение показателя общей площади фиброателектаза к общей площади кардиальной доли правого лёгкого несколько снизилось и составило 17% (Таблица 11). Результаты, полученные в ходе

электронномикроскопического исследования на 5-ые сутки показали появление соединительной ткани в участках ранее реализовавшихся ателектазов (Рисунок 38, Рисунок 39), что позволяет говорить о фиброателектазах.

Таблица 10 - Число лабораторных животных с идентифицированными фиброателектазами на 50-ые сутки эксперимента

	50-ы	е сутки
	n	%
Субплевральные фиброателектазы	3	10,3%
Интрапульмонарные фиброателектазы	4	13,8%
Без ателектазов	22	75,9%
Всего	29	100%

Таблица 11 - Значения показателей общей площади кардиальной доли правого лёгкого и площади идентифицированных фиброателектазов, а также их соотношение на 50-ые сутки эксперимента

Срок эксперимента	n	Площадь кардиальной доли правого легкого тыс. (медиана) µm ²	Медианное значение суммарной площади фиброателектазов тыс. µm ²	Соотношение суммарной площади фиброателектазов к площади кардиальной доли правого легкого
50 сутки	7	29 014	4 939	17,02%

Особенностью данного периода явилось то, что на тотальных срезах наблюдали некоторое ослабление проявлений расстройств кровообращения, выразившееся в стихании интерстициального отека и нарастание диффузных изменений образцов легочной ткани, выразившееся в изменении толщины межальвеолярных перегородок. Значительно утолщенные в финале предыдущего периода за счет усиления их клеточной инфильтрации на 50-ые сутки МАП, хотя и не достигали значений, присущих контрольной группе, но были значительно меньше по сравнению с предыдущим сроком (P=0,031) (Рисунок 33).

			50 сутки				
Показатели	Контроль		С фиброателектазами		Без		
					фиброателектазов		
	Субплевр.	Интрапульм.	Субплевр.	Интрапульм.	Субплевр.	Интрапульм.	
Толщина МАП μm,	6,2	6,4	9,5	9,3	7,65	7,8	
ΠA μm ²	770	640	590	702	668	756	
ПСГМ в стенке	177	18.0	26.8	26.2	19.2	194	
бронхиол, %	1,,,	10,0	20,0	, _	17,2		
ВЭ (μm) на 1 μm	0.025	0.025	0.023	0.025	0.024	0.023	
периметра по БМ	0,025	0,025	0,025	0,025	0,024	0,025	
ПЭВ (µm²) на1 µm	16.1	16.5	15.8	157	159	15.9	
периметра по БМ	10,1	10,5	13,0	13,7	13,7	13,7	

Таблица 12 - Результаты морфометрических показателей кардиальной доли правого лёгкого в контроле и на 50-е сутки эксперимента



Рисунок 33 - Толщина МАП. А – в лёгких с ателектазами в сравнении с 14-ми сутками и контролем. В – 50-ые сутки эксперимента в сравнении с контролем

Этому соответствовала персистенция очаговых изменений за счет реализовавшихся ателектазов субплевральной и интрапульмонарной локализаций.

Другими особенностями стали значительно большая полиморфность клеточного инфильтрата, идентифицируемая на полутонких срезах И электронограммах, а также реакция булавовидных клеток, идентифицируемая иммуногистохимически и на ультраструктурном уровне. В зависимости от морфологической картины ателектаза, наблюдавшейся в данном периоде, состояния ателектаза были обозначены нами как персистенция и трансформация. Под персистенцией ателектаза мы понимали и идентифицировали комплекс изменений или состояние, при котором реализовавшийся ателектаз, как правило, был неполным и не претерпевал сколько-нибудь существенных изменений, Ha морфологически. ультраструктурном определяемых уровне В нем представлялось возможным идентифицировать альвеолоциты II типа, клетки инфильтрата, в основном, лимфоциты и фибробласты, располагавшиеся в интерстиции и пространстве между альвеолоцитами и капиллярами (Рисунок 34).



Рисунок 34 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Инфильтрат в альвеолярной септе. КАП – капилляр; ЭР – эритроцит; АП – альвеолоцит II типа; Л – лимфоцит; МФ – макрофаг; ФБ – фибробласт. ТЭМ, ×10000

На периферии ателектатического поля наблюдали частичное восстановление кровообращения на уровне капилляров микроциркуляторного русла. При этом

90

капилляры имели расширенный и несколько деформированный просвет и причудливую форму, придающую им сходство с сосудистыми полостями «кавернами» (Рисунок 35).



Рисунок 35 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Кавернозная трансформация капилляров на периферии ателектатического поля. ТЭМ ×8500

Эндотелиоциты были уплощены, а содержимое капилляров имело повышенную электронную плотность.

В ткани лёгких, помимо уменьшения толщины МАП, наблюдали также увеличение ПА до 702 µm² на 50-ые сутки эксперимента (Таблица 12, Рисунок 36) и уменьшение доли безвоздушных участков с 63,5% (14-ые сутки) до 47,8% (50-ые сутки) (Рисунок 37).



Рисунок 36 - Площадь альвеол. А – в лёгких с ателектазами и сравнении с 14-ми сутками и контролем. В - 50-ые сутки эксперимента в сравнении с контролем



Рисунок 37 - Доля безвоздушных участков в исследуемых участках. А – в лёгких с ателектазами и сравнении с 14-мисутками и контролем. В - 50-ые сутки эксперимента в сравнении с контролем

92

Значительно реже морфологически идентифицировали состояние, определенное нами, как трансформация (организация), в участке ателектаза нарастали склеротические изменения и превалировала волокнистая составляющая. Субплеврально в участках реализовавшихся ателектазов наблюдали разрастания соединительной ткани, состоящей из цилиндрических коллагеновых волокон, преимущественно спиральной формы, соединённых между собой системой связочных волокон. Висцеральная плевра, покрывающая участок ателектаза, была деформирована, имела мелкобугристую гофрированную поверхность (Рисунок 38).



Рисунок 38 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Соединительная ткань на участке реализовавшегося субплеврального ателектаза. КВ – коллагеновые волокна; П – плевра. СЭМ ×150

В зоне интрапульмонарного ателектаза также преобладали коллагеновые волокна, а основу клеточного инфильтрата составляли фибробласты. На

ультраструктурном уровне в участке ателектаза не было выявлено воздухосодержащих пространств и полостей, в ателектатическом поле наблюдали редукцию капилляров и преобладание волокнистой составляющей над клеточной (Рисунок 39).



Рисунок 39 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Рыхлая волокнистая соединительная ткань на участке интрапульмонарного ателектаза. На переднем плане измененный эритроцит (эхиноцит). СЭМ ×11400

В двух случаях в участках, соответствовавших ателектазу, безусловно доминировала клеточная составляющая. Вне зависимости от локализации вся площадь ателектатического поля была инфильтрирована лимфоидными элементами, причем характер инфильтрации варьировал от очагового до диффузного (Рисунок 40).



Рисунок 40 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Диффузная лимфоидноклеточная инфльтрация субплеврального ателектатического поля. Окраска гематоксилином и эозином А -увеличение ×50, Б- увеличение ×100

При биохимическом исследовании установлено, что общее содержание контрольные показатели. На этом фосфолипидов СТ превысило фоне фосфолипидов количественные показатели отдельных фракций фосфатидилглицерина, кардиолипина и фосфатидилэтаноламинов были попрежнему снижены. Повышение общего содержания фосфолипидов СТ в БАЛ сочеталось с гиперплазией булавовидных клеток, идентифицируемых, как при трансмиссионной, так и сканирующей электронной микроскопии, а также повышением экспрессии белка СС16, наблюдаемым не только в бронхиолах, но и зонах бронхиоло-альвеолярного перехода и альвеолярных ходах (Рисунок 41,Рисунок 42,Рисунок 43).



Рисунок 41 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Гиперплазия булавовидных клеток бронхиолярной выстилки. ПБ-просвет бронхиолы; БК – булавовидная клетка. ТЭМ ×15000



Рисунок 42 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Гиперплазия булавовидных клеток эпителиальной выстилки бронхиолы. СЭМ ×1500



Рисунок 43 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Экспрессия белка СС 16 в терминальной, респираторной бронхиолах и зонах бронхиоло-альвеолярного перехода. ИГХ реакция с антителами к СС 16 ×200

Спектры, полученные при раман-спектроскопическом исследовании имели отличную от предыдущих периодов, двугорбую форму, обусловленную флуоресценцией ФАД и гемоглобина (Рисунок 44).



Рисунок 44 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 4 период. Первый локальный максимум обусловлен флуоресценцией флавинадениндинуклеотида (ФАД), второй – гемоглобина

3.1.5. Формирование фиброателектазов, восстановление воздушности лёгочной ткани

Особенностью данного периода является четкое выделение двух векторов развития ателектазов независимо от их локализации. Обычно в течение предыдущего, либо в самом начале описываемого периода можно в большинстве случаев выявить разрешение значительной части ателектазов и восстановление в той или иной степени воздушности легочной ткани.

Морфологическими признаками реализации данного преобладающего направления развития можно считать дальнейшее уменьшение толщины МАП (достигли значения 9,5 µm, снизившись по сравнению с 14 сутками более чем на 20%, но не достигнув значений, наблюдаемых в контрольной группе). ВЭ и ПЭВ снизились до уровней 0,024 и 16,0 соответственно, оказавшись при этом ниже показателей контрольной группы. Следует отметить, что процент сокращения гладких миоцитов не претерпел существенных изменений по сравнению с 14-ми сутками эксперимента, оставаясь на уровне 26,2-26,8%. Площадь альвеол (ПА) возросла, достигнув значения 590 µm² в субплевральных участках и 702 µm² в интрапульмонарных.

На данный срок эксперимента (51-90-ые сутки), выраженная ИГХ реакция к белку СС16 определялась в участках ателектазов и в сохранившихся альвеолярных ходах (Рисунок 45). Число позитивных к белку СС16 клеток на 100 альвеолоцитов составило 14, сохраняя при этом повышенные значения по сравнению с контрольной группой. Ультраструктурно отметили появление признаков повышенной функциональной активности булавовидных клеток, выражавшихся в их гиперплазии, появлении многочисленных секреторных гранул (Рисунок 46 А, Б).



Рисунок 45 - Радиоиндуцированное повреждение легочной ткани, 5 период. Выраженная ИГХ реакция с антителами к СС 16, разрешение субплеврального ателектаза, частичное восстановление воздушности легочной ткани. ×100



Рисунок 46 - А Радиоиндуцированное повреждение легких, 5 модуль. Апикальная секреция содержимого секреторной вакуоли булавовидной клетки в просвет бронхиолы. ТЭМ ×35000. Б - Везикулы сурфактанта (СТ), окруженные многослойными осмиофильными мембранами в просвете

Отмечено увеличение как суммарного, так и фракционного содержания фосфолипидов СТ. Если разрешения ателектаза не происходило, отмечали реализацию второго вектора развития: переход ателектаза в хроническую стадию, развитие фиброателектаза, фиброз и склероз ателектатического поля (Рисунок 47 А, Б).



Рисунок 47 - Радиоиндуцированное повреждение легких, 5 модуль. Организация интрапульмонарного ателектаза. А – Окраска по Ван Гизону ×100. Б - Окраска по Маллори ×100

При использовании селективных окрасок идентифицировали коллагеновые и огрубение эластических волокон (Рисунок 47 Б). Нередко наблюдали ретракцию ателектатического поля. На ультраструктурном уровне альвеолы приобретали щелевидную форму или вовсе отсутствовали. При этом ИГХ реакция выявляла умеренную экспрессию белка СС16 в зоне ателектатического поля и соседствующих с ним участках легочной паренхимы, в которой отмечали развитие компенсаторной эмфиземы (Рисунок 48).



Рисунок 48 - Радиоиндуцированное повреждение легочной ткани, 5 период. Экспрессия белка СС 16 в ателектатическом поле и прилегающих к нему участках легочной паренхимы. ИГХ реакция с антителами к СС16 ×200

3.2. Морфологические особенности ателектазов легких при лучевом воздействии на грудную клетку при лечении РМЖ (клинические наблюдения)

К особенностям использованного в данной работе клинического материала является отсутствие возможности изучить динамику формирования инициальных (фоновых) предателектатических изменений легочной ткани, составляющих сущность первого морфогенетического модуля. Все ателектазы, инициированные лучевым воздействием, первоначально были диагностированы исключительно методом рентгеновской компьютерной томографии (Таблица 13).

Таблица 13 - Сроки выявления ателектазов легкого, вызванных РИПЛ, с помощью метода компьютерной томографии в клинике на основании анализа медицинской документации

Сроки после лучевой терапии, мес.	Количество лиц с прижизненно диагностированными с помощью КТ ателектазами легкого, вызванных РИПЛ
1-6	9
7-12	10
13-18	6
19-24	3
Всего	28

Важной особенностью изучения ателектазов в клинике является то, что образцы легочной паренхимы с реализовавшимися ателектазами стали доступными для морфологического изучения лишь после наступления летального исхода и проведения секции, иногда спустя довольно значительное время после их диагностирования и окончания лучевого воздействия с лечебной целью.

Во всех наблюдениях признаки предшествующей или сопутствующей легочной патологии отсутствовали, либо не были выявлены, и участки лёгкого, в

которых при жизни пациентов были диагностированы ателектазы, стали доступны для исследования после наступления летального исхода и вскрытия (Таблица 14).

Сроки, после лучевой терапии, мес.	Количество лиц с прижизненно диагностированными с помощью КТ ателектазами легкого, вызванных			
	РИПЛ			
1-6	1			
7-12	2			
13-18	3			
19-24	2			
25-30	3			
31-36	6			
37-42	11			
Всего	28			

Таблица 14 - Сроки изучения морфологиче	ского субстрата ателектазов
легкого у лиц с раком молочной железы	(секционные наблюдения)

В 8 случаях ателектазы располагались субплеврально (Рисунок 49), в остальных 20 - были диагностированы на КТ как и субплевральные, так интрапульмонарные ателектазы (Рисунок 50).

На секции эти участки макроскопически выглядели в виде розовато-серых полей неправильной формы, плотной или тестоватой консистенции, причем нередко они соседствовали с бронхом, но располагались не концентрически, а эксцентрично (Рисунок 51).

По периферии ателектаза были выражены проявления перифокальной эмфиземы. Однако, гораздо чаще ателектатическое поле представляло собой сплошной массив измененной легочной паренхимы с сохранившимися единичными воздухсодержащими пространствами-полостями (Рисунок 52).



Рисунок 49 - Радиоиндуцированное воздействие при РМЖ. Компьютерная томография (7 месяцев после начала облучения). Массивный дисковидный линейный субплевральный ателектаз



Рисунок 50 - Множественные субплевральные и интрапульмонарные ателектазы спустя 15 месяцев после лучевого воздействия. Пациентка М., 55 лет. Состояние после операции радикальной мастэктомии



Рисунок 51 - Радиоиндуцированное воздействие при РМЖ (секционный материал, 4 месяца после начала облучения). Массивный интрапульмонарный ателектаз (АТ), располагающийся эксцентрично по отношению к бронху, склероз бронха и сосудов, перифокальная эмфизема вокруг бронха и по периферии ателектаза. ТЭМ ×300



Рисунок 52 - Радиоиндуцированное воздействие при РМЖ (секционный материал 8 месяцев после начала облучения). Массивный участок спавшейся легочной паренхимы с единичными воздухсодержащими пространствами-полостями. СЭМ ×250

Участки склероза при СЭМ отличались повышенной электронной плотностью, либо идентифицировались с помощью селективных окрасок (Рисунок 53).

Проявления склероза в участках ателектазов были выражены по-разному и соответствовали времени их исследования. В некоторых случаях наблюдали инфильтрацию участка ателектаза мононуклеарами. Описанные изменения сопровождались выраженной сосудистой реакцией (Рисунок 54).



Рисунок 53 - Радиоиндуцированное воздействие при РМЖ (секционный материал 18 месяцев после начала облучения). Интрапульмонарный фиброателектаз. Выраженный склероз ателектатического поля. Окраска по Ван Гизону-Вейгерту. ×50



Рисунок 54 - Радиоиндуцированное повреждение при РМЖ (секционный материал 25 месяцев после начала облучения) Утолщение и склероз плевры, выраженная лимфоидноклеточная модификация субплеврального ателектаза на фоне сосудистой реакции. Окраска гематоксилином и эозином. А - ×50, Б - ×200

Во всех случаях ателектатические поля имели небольшие размеры и были расположены либо субплеврально, либо интрапульмонарно на стороне лучевого воздействия. В случае субплеврального расположения макроскопически площадь ателектаза была небольшой и участок практически не отличался от окружающей

легочной паренхимы. Возможность идентифицировать ателектаз реализовывалась при помощи СЭМ. Плевра, покрывающая ателектаз, была утолщена и приобретала гофрированный вид также, как и было отмечено в эксперименте (Рисунок 38).

Особенностью секционных наблюдения явилось то обстоятельство, что морфологический субстрат стал доступным в разные сроки после окончания лечения и прижизненной диагностики ателектазов. При этом, мы посчитали уместным разделить все доступные случаи по временному признаку: результаты до 1 года после облучения (3 случая), в течение 2 лет (5 случаев) и отдаленные сроки (20 случаев).

При морфологическом исследовании отметили ряд особенностей. Так, в срок до 1 года толщина МАП была выше по сравнению с контрольной группой (10,3µm) и составила 12,7 µm в случае идентификации ателектаза и 11,8 µm без такового (P<0,001). Площадь альвеол существенно снизилась по сравнению с контролем (31036 µm²) достигнув величины 26524 µm² (P<0,001). Показатель сокращения гладких миоцитов в стенке бронхиолы не показал значимых отличий по сравнению с контролем (P>0,05). Доля безвоздушных участков увеличилась по сравнению с контролем, достигнув величины 62,3% (P=0,00075) (Таблица 15, Рисунок 55).

Показатели	Секционный материал контрольной группы (n=18)	Секционный материал от лиц с РМЖ (n=3)		
		В участках Вне		
		ателектазов.	ателектазов	
Толщина МАП μm,	10,3	12.7	11,8	
$\Pi A \mu m^2$	31036	26524	25555	
ПЭВ (µm²) на1 µm периметра по БМ	32,1	31,0	31,0	
ВЭ (µm) на 1 µm периметра по БМ	0,028	0,027	0,027	
ПСГМ, %	22,1	21,3 22,0		
Доля безвозд. уч.%	50,4	62,3	59,6	

Таблица 15 - Результаты морфометрических показателей лёгких секционного материала. Срок с момента обнаружения ателектаза до 12 мес.



Рисунок 55 - Результаты морфометрии секционного материала, срок менее 12 мес. после диагностирования ателектаза в сравнении с контролем. А – толщина межальвеолярных перегородок, В – ПА, С – ПЭВ, D – ПСГМ. Е-доля безвоздушных участков

В группе от 1 до 2 лет толщина МАП не претерпела существенных изменений по сравнению с группой до 1 года, оставаясь выше контрольных значений. Доля безвоздушных участков в исследуемых образцах продолжает увеличиваться, достигнув 68% (P=1,4e-05), при этом, существенных различий не зафиксировали между участками в ателектазированных лёгких, так и без таковых. ПСГМ также не показал значимых отличий по сравнению с контрольной группой (P>0,05) (Таблица 16, Рисунок 56).

108
Таблица 16 - Результаты мо	орфометрических показател	іей лёгких секционного
материала. Ср	ок обнаружения ателектаза	и 12-24 мес.

Показатели	Секционный материал от лиц с РМЖ (n=5)	
	В участках	Вне ателектазов
	ателектазов.	
Толщина МАП μm,	12,5	10,5
$\Pi A \mu m^2$	17861	23068
ПЭВ (µm²) на1 µm периметра по БМ	31,0	32,5
ВЭ (µm) на 1 µm периметра по БМ	0,026	0,027
ПСГМ, %	22,0	21,8
Доля безвозд. уч.%	68,9	67,0



Рисунок 56 - Результаты морфометрии секционного материала, срок от 12 до 24 после диагностирования ателектаза в сравнении с контролем. А – толщина МАП, В – ПА, С –ПЭВ, D – ПСГМ. Е-доля безвоздушных участков

В группе более 2 лет наблюдалось прогрессирование утолщения МАП, достигая величины 13,4 µm, что было на 7,0% выше по сравнению с группой 12-24 мес. Доля безвоздушных участков в исследуемых образцах продолжает увеличиваться, достигнув 74,6% (Р>0,05). Процент сокращения гладких миоцитов

не претерпевает существенных изменений по сравнению с группой от 12-24 мес. (Таблица 17, Рисунок 59).

Показатели	Секционный материал от лиц с РМЖ (n=5)	
	В участках	Вне ателектазов
	ателектазов.	
Толщина МАП µm,	13,4	11,4
ΠA μm ²	16431	23084
ПЭВ (µm²) на1 µm периметра по БМ	33,2	31,6
ВЭ (µm) на 1 µm периметра по БМ	0,026	0,027
ПСГМ, %	22,0	21,9
Доля безвозд. уч.%	74,3	66,6

Таблица 17 - Результаты морфометрических показателей лёгких секционного материала. Срок обнаружения ателектаза более 24 мес.



Рисунок 57 Результаты морфометрии секционного материала, срок обнаружения ателектаза более 4 мес. в сравнении с контролем. А – толщина МАП, В – ПАВ, С – ПЭВ, D – ПСГМ. Е-доля безвоздушных участков

Анализируя результаты морфометрии секционного материала, в зависимости от сроков его обнаружения и фактора ателектаза, обнаружено, что доля безвоздушных участков в исследуемых лёгких прогрессирует с течением времени

(Рисунок 59). Более того, этот процесс затрагивает не только лёгкое на стороне облучения при РМЖ, но и контрлатеральное. При этом, в отличие от экспериментальной модели морфогенеза ателектазов при воздействии ИИ, при исследовании секционного материала мы не наблюдали восстановления воздушности лёгочной ткани.



Рисунок 58 - Доля безвоздушных участков в исследуемых фрагментах лёгких пациентов с РМЖ в различные сроки после обнаружения ателектазов

Спектры образцов легочной ткани данной группы, полученные при раманспектроскопическом исследовании, содержали, как правило, три локальных максимума в независимости от срока исследования (Рисунок 59).

Локальные максимумы характеризовались нарастанием интенсивности флуоресценции от пика к пику и своим происхождением были обязаны содержанию в легочной паренхиме активных форм кислорода, флавинадениндинуклеотида и гемоглобина.



Рисунок 59 - Радиоиндуцированное воздействие при раке молочной железы (секционный материал 26 месяцев после начала облучения). Первый локальный максимум обусловлен АФК (супероксиданион, ОН-), второй флуоресценцией флавинадениндинуклеотида (ФАД), третий – гемоглобина

С учетом полученных данных при морфометрическом исследовании секционного материала, можно сделать вывод, что с течением времени, прошедшего после облучения грудной клетки по поводу рака молочной железы и возникшего ателектаза, наблюдаемые изменения в лёгких свидетельствуют о её морфофункциональной перестройке, в первую очередь связанной с существенным увеличением доли безвоздушных участков, достигающей 74,3%. При этом, также происходит утолщение МАП и снижение площади альвеол. Более того, указанные изменения мы наблюдали не только в лёгких с прижизненно диагностированными контралатеральных. Однако, ΜЫ не зафиксировали ателектазами, НО И существенных изменений в воздухопроводящих путях за счет лимитирования их просвета. Так в нашем исследовании, процент сокращения гладких миоцитов не показал значимых отличий по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, данные полученные в результате эксперимента по моделированию РИПЛ, позволяют представить морфогенез возникающих ателектазов в виде сменяющих друг друга периодов, законченных во временном и морфологических контекстах. Смена каждого периода знаменуется наступлением

новых качественных изменений в легочной паренхиме, составляющих его сущность. При изучении историй болезни и секционного материала определить морфогенез ателектазов в виде такой же последовательности не представляется возможным, хотя и удается выявить некоторые особенности и закономерности их возникновения и развития у лиц с РМЖ.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Патология, изучению которой посвящено настоящее исследование, согласно Международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10) относится к категории «Другие респираторные нарушения» (J98) и обозначается, как легочный коллапс (J98.1), включающий ателектаз и коллапс легкого.

В морфологическом контексте речь идет о легочной патологии, которая у взрослого контингента обычно достаточно редко выступает в виде отдельной нозологической формы, и в качестве таковой является обычно прерогативой позднего перинатального или раннего постнатального периодов.

Гораздо чаще ателектазы проявляются В виде осложнений предсуществующей или сопутствующей легочной патологии, расширенных операций на органах грудной или брюшной полостей, ожоговых и ингаляционных травм, последствий общего наркоза, различных физических и химических экзо- и воздействий. Именно эндогенных ЭТО сочетание, a чаще комбинации этиологических факторов определяют особенности морфогенеза и многообразие морфологических проявлений ателектазов, и, вместе с тем, подтверждают общие закономерности формирования данного патологического процесса в легких и соответствие установленному Д.С.Саркисовым закону комбинационных И рекомбинационных преобразований [33, 25]. Исходя из этого, и, учитывая тот факт, что в работе были использованы клинические наблюдения, при которых ателектазы воздействия. были легких, возникающие после радиоиндуцированного диагностированы с помощью рентгеновской компьютерной томографии, а впоследствии подтверждены на секции, мы сочли необходимым представить и охарактеризовать морфологические изменения легочной ткани в виде периодовблоков.

Поскольку использованный в данной работе клинический материал был получен при патологоанатомическом исследовании умерших, страдавших раком молочной железы, у которых ателектазы после лучевого воздействия образовывались в течение 1-24 месяцев, а для изучения стали доступны в течение

114

1-42 месяцев, мы не видели альтернативы применению данного подхода. Безальтернативность обусловливалась еще одним немаловажным обстоятельством. Если в эксперименте мы имели возможность осуществлять выведение животных из опыта последовательно в установленные сроки, что предоставляло нам возможность изложить морфогенез возникающих при РИПЛ ателектазов в виде логически завершенной схемы-цепочки, то при исследовании клинического материала такой возможности не было.

С 2016 по 2021 год из более чем 661 пациентов, получавшего лучевую терапию по поводу РМЖ, рентгенологически был подтвержден 121 случай возникновения ателектазов легких после лучевого воздействия. По всей видимости, это не отражает истинную частоту возникновения ателектазов, поскольку в медицинской документации были отражены только те ателектазы, которые сопровождались развитием дыхательной недостаточности. В данных случаях клиницисты и врачи рентгенологи, анализируя причины развития недостаточности диагностировали дыхательной ателектаз при помощи компьютерной томографии. Кроме того, как было отмечено в главе 1, диагностика ателектаза, возникающего на фоне ИЗЛ или ХОБЛ, представляет определенные трудности ввиду схожести рентгенологической картины [80]. Морфологическое исследование было проведено в 28 случаях.

Под периодом морфогенеза ателектаза мы понимали конструктивно законченный и морфологически завершенный в количественном и качественном отношении комплекс изменений легочной ткани. Применение периодизации позволило, на наш взгляд, более объективно и всесторонне представить морфогенез ателектазов или изучить их особенности при РИПЛ. Кроме клинического, был изучен материал, полученный от лабораторных животных.

Принимая во внимание то обстоятельство, что морфологические проявления и морфогенез фиброзирующих альвеолитов, возникающих в легких при различных ИЗЛ, токсическом и радиоиндуцированном повреждениях, в клинике и эксперименте довольно неплохо изучен в предшествующих фундаментальных исследованиях [9, 36, 161], нами было принято решение, насколько это

115

представлялось возможным, уйти от излишней детализации изложения материала временном контексте и сосредоточиться на описании исключительно BO морфогенеза ателектазов легких, включая особенности ремоделирования легочной ткани в этих условиях. Мы также вполне отдавали себе отчет в том, что количество периодов, используемых для изложения морфогенеза и морфологических особенностей ателектазов, в клинике и эксперименте, естественно, будет неодинаковым, поскольку при исследовании клинического материала в качестве объекта исследования будут представлены de facto ателектазы, доступные для патогистологического изучения лишь на секционном материале. Поэтому, при (секционного) изучении клинического материала было выделено три морфогенетических периода:

- формирование ателектазов в субплевральных отделах легкого;

- реализация лучевых альтераций в интрапульмонарных отделах легкого, формирование интрапульмонарных ателектазов;

- особенности ремоделирования легочной ткани при возникновении и развитии ателектазов.

При анализе материала, полученного от экспериментальных животных, было сформулировано пять морфогенетических периодов:

- формирование инициальных (фоновых) предателектатических изменений легочной ткани;

- реализация лучевых альтераций в субплевральных отделах легкого, формирование субплевральных монофакторных ателектазов;

- реализация лучевых альтераций в интрапульмонарных отделах легкого, формирование интрапульмонарных мультифакторных ателектазов;

- персистенция, трансформация структурных изменений в лёгких, формирование векторов эволюции ателектазов;

- формирование фиброателектазов, восстановление легочной ткани.

Еще одной особенностью изучения клинического материала, полученного на секции, было отсутствие условий для использования тонких прецизионных методов исследования легочной ткани (изучение лаважной жидкости для оценки

количественного и качественного состава фосфолипидов легочного сурфактанта, иммуногистохимическое и электронномикроскопическое исследование). Однако все это наилучшим образом было использовано и применено при изучении экспериментальных образцов ткани.

Проведенное исследование по моделированию эксперименте В радиоиндуцированного воздействия на легкие свидетельствует о значительной частоте (в нашем исследовании 26,3%) возникающих ателектазов и их роли в последующем ремоделировании легочной ткани. Обнаружено, что для развития ателектазов необходимо определенное время с начала эксперимента, т.е. наличие так называемого инициального латентного предателектатического периода, во время которого происходит развитие изменений В легочной ткани, обусловливающих и определяющих впоследствии формирование ателектазов.

До настоящего времени не было получено ответа на вопрос, что является первичным, повреждение эпителиальной составляющей (альвеолоцитов I и II типов, эпителия бронхиол и бронхов или участвующих, наряду с альвеолоцитами, в метаболизме и регуляции секрета сурфактанта булавовидных клеток), либо эндотелиоцитов, субэндотелиального пространства, базальной мембраны капилляров. Разные ученые придерживаются той или иной точки зрения [36, 161].

B нашей работе эти инициальные, названные нами «предателектатическими», изменения (1 период) были обнаружены раньше всего в эндотелиоцитах капилляров межальвеолярных перегородок и свидетельствовали об (набухание, изменении альтерации одних вакуолизация) клеток И функциональной активности (усиление пиноцитоза) Также других. доминировавшими в этот период общепатологическими процессами были расстройства кровообращения в виде полнокровия капилляров альвеолярных септ, отека интерстициального пространства. Альвеолоциты, напротив, первоначально выглядели относительно сохранными, однако, спустя некоторое время (в нашем исследовании 48 часов), в альвеолоцитах II типа были отмечены изменения осмиофильных пластинчатых телец В виде нарушения упорядоченного расположения мембран и последующего опустошения ОПТ. Нередко наблюдали

явления апикальной секреции содержимого ОПТ в просвет альвеолы. Эти изменения были обусловлены сочетанным действием двух повреждающих факторов облучения: повреждением ДНК и радиолизом фосфолипидов ОПТ под ИИ [137]. Особенности строения действием эндотелиоцитов позволяют предположить, что ИИ направлено, в основном, на повреждение ДНК эндотелиальных клеток и тем самым оправдывает и объясняет необходимость дополнительного времени для реализации альтеративного действия двух повреждающих факторов на альвеолоциты.

Усиление альтерации эндотелиоцитов и альвеолоцитов I и II типов, прогрессирование расстройств кровообращения в виде развития стаза, сладжа, формирования тромбов в просвете капилляров, развитие гипоксии ткани закономерно сказалось на состоянии сурфактанта, что выразилось в уменьшении суммарного содержания фосфолипидов на 20% по сравнению с контролем за счёт снижения значений фракций фосфатидилэтаноламина c 4.2% ЛО 3,6%, кардиолипина с 9,1% 5.2% и фосфатидилглицерина и ЛО некоторых неидентифицируемых фосфолипидов с 3,6% до 2,1%.

Некоторые исследователи полагают, что изменения в легочной паренхиме, составляющие сущность первого периода, своим происхождением обязаны реализации в ней оксидативного (окислительного) стресса [66, 178, 211]. В качестве доказательной базы они использовали метод прямого измерения активных форм кислорода после окрашивания экспериментальных образцов тканей диацетатом 5-6- карбокси-2,7-дихлордигидрофлуоресцеина (DCFDA), либо производили оценку окислительного повреждения белков, липидов, нуклеиновых кислот, а затем флуоресценции. Несколько измеряли интенсивность реже оценивали выраженность оксидативного стресса с помощью технологии электронного парамагнитного резонанса. В данном исследовании мы подтверждали развитие оксидативного стресса при помощи метода рамановской спектроскопии. Следует отметить, что эти технологии стали в последнее время использоваться, в частности, для выявления ранних стадий рака легкого [140, 193].

В нашей работе с помощью рамановской спектроскопии также было констатировано повышенное содержание в зонах ателектазов гидроксильных радикалов – OH, супероксиданионрадикалов O₂- и небольшого количества метильных радикалов – CH₃-. Метильные радикалы в этих условиях могут, взаимодействуя с кислородом, образовывать формальдегид. Последний, будучи исключительно реакционно-способным соединением, обладает способностью, как и гидроксильные радикалы, усиливать эффект оксидативного стресса. Кроме того, являясь канцерогеном, формальдегид способствует повышению риска развития злокачественных опухолей в легких.

Инициальный период морфогенеза РИПЛ показал, возникновение и развитие так называемого сосудисто-паренхиматозного блока, в основе развития которого лежит разобщение капилляров МАП и эпителия альвеол первоначально вследствие отека интерстиция, а впоследствии за счет развития клеточной инфильтрации. Первые ателектазы в легких экспериментальных животных были обнаружены субплеврально (2 период), начиная с 7-ых суток от начала эксперимента, и формировались в течение временного промежутка, названного нами «критическим периодом формирования ателектазов» с 7-ых по 14-ые сутки эксперимента. Все это лает основание полагать 0 наличии предпосылок, обусловленных предшествующими этому периоду изменениями легочной ткани.

Отмечена определенная закономерность формирования ателектазов, начиная с субплевральных отделов и последующего распространения вглубь паренхимы легкого, т.е. интрапульмонарно. Полученные данные также позволяют сделать вывод о том, что в основе развития субплевральных ателектазов лежит дефицит сурфактанта, что подтверждается уменьшением как его суммарного (общего) содержания, так и изменения фракционного состава фосфолипидов в лаважной жидкости. Эти показатели уменьшались с самого начала опыта и достигали своего минимума к третьим суткам эксперимента. Нарастающий недостаток сурфактанта, по нашему мнению, обусловлен его разрушением под действием γ-излучения, приводящего к радиолизу воды, появлению большого количества свободных радикалов и активных форм кислорода и перекисному окислению фосфолипидов,

входящих в состав сурфактантно-альвеолярного комплекса. Другой причиной деструкции сурфактанта является прогрессирующая гипоксия тканей. обусловленная развитием распространенных расстройств кровообращения и формированием капиллярно-паренхиматозного блока в альвеолярных септах, что приводит к дистрофии и некрозу альвеолоцитов, обеспечивающих синтез сурфактанта. Поскольку в эти сроки эксперимента не было обнаружено скольконибудь выраженных изменений со стороны воздухопроводящих путей, мы сочли дефицит сурфактанта доминирующей причиной их развития и отнесли последние к категории монофакторных, сурфактант-зависимых. Крайне важным оказалось и нарушение соотношения отдельных фракций фосфолипидов на фоне уменьшения их общего содержания [52, 166, 195].

вглубь легкого, Продвижение лучевых альтераций сопровождалось утолщением межальвеолярных перегородок за счет сохраняющегося отека и присоединения клеточной макрофагальной и лимфоцитарной инфильтрации. Интенсивность вышеупомянутых расстройств кровообращения была несколько снижена, они приняли более распространенный характер. Прочие НО морфометрические показатели, имея в виду, процент сокращения гладких миоцитов в стенке бронхиол, высоту и площадь эпителиальной выстилки бронхиол, несмотря на некоторое увеличение по сравнению с контролем, не играли статистически значимой роли в развитии субплевральных ателектазов.

Ателектазы, образующиеся интрапульмонарно (3 период), имели ряд отличительных особенностей по сравнению с субплевральными. Во-первых, характеризовались мозаичностью расположения. Во-вторых, развивались при отсутствии резко выраженного экссудативного компонента. В-третьих, были многочисленными. Однако, каждый ателектатический участок занимал меньшую площадь.

Более того, формированию интрапульмонарных ателектазов в 3-ем периоде, предшествовали изменения в бронхах и бронхиолах в виде лимитирования их просвета и появления слизисто-серозного экссудата. При морфометрическом исследовании ПСГМ в интрапульмонарных участках составил 27%, в то время, как

120

в субплевральных 25,6%, что превышало результаты предыдущего периода (21,3% и 20,8% соответственно), так и результаты в контрольной группе (18,0% и 17,7% соответственно). Морфометрически было доказано также увеличение ВЭ и ПЭВ вследствие набухания эпителиоцитов и гипертрофии их ядер.

Состояние длительного и прогрессирующего от периода к периоду сокращения гладких миоцитов стенки бронхиол, выражающегося в процентном отношении, объясняется в многочисленных учебных пособиях и руководствах особенностями структурно-функциональной организации гладких мышц. Так, в частности, имеется в виду присущее гладким мышцам свойство пластичности, то есть их способность находиться, как в состоянии длительного расслабления, так и стойкого сокращения. Пластичность гладких мышц обусловлена очень низкой интенсивностью происходящего в них гидролиза АТФ, а также длительной персистенцией и крайне медленным удалением из саркоплазмы ионов кальция. Кроме того, отмечено также, что при РИПЛ, на фоне реализующейся радиационной токсичности, стареющие эпителиальные клетки и экспрессируемые ими SASP-факторы способствуют активации фибробластов, характеризующихся повышенной экспрессией α-SMA актина гладких мышц и коллагена и их накоплением в мышечной оболочке бронхиол [54, 76].

Важной особенностью явилось еще и то, что ателектазы, располагавшиеся в паренхиме легкого, в большинстве случаев не были тотальными, поэтому их правильнее называть дистелектазами. В участках спавшейся под действием многочисленных факторов участков легочной ткани были видны множественные и/или единичные немногочисленные воздухосодержащие участки, как правило, щелевидной формы. Поскольку ранее была установлена первичность сосудистых изменений при лучевой патологии легких [15] и вторичность изменений клеточной (паренхиматозной) составляющей аэрогематического и бронховаскулярного барьеров, сочетающихся с установленным снижением содержания фосфолипидов, то на фоне реализации обтурационного механизма логичной представляется многофакторность ателектазов, развивающихся В легких при облучении [17]. К сохранение интрапульмонарно ИХ числу относится изменений

количественных и качественных характеристик легочного сурфактанта, усиление эффекта обтурационного механизма, утолщение межальвеолярных перегородок, персистенция расстройств кровообращения, принимающих диффузный характер.

После прекращения действия повреждающего фактора в эксперименте дальнейшая эволюция реализовавшихся ателектазов осуществлялась по различным направлениям-векторам: персистенция и трансформация (4 период).

Под персистенцией ателектаза (лат. persisto – постоянно пребывать, оставаться без изменений) мы понимали состояние, при котором ателектатический участок в течение всего периода не претерпевал склеротических изменений и завершался полным или частичным восстановлением воздушности лёгочной паренхимы.

Трансформация (лат. transformatio – преобразование, превращение) применительно к ателектазу означала в нашем понимании реализацию комплекса изменений последнего, приводящих в конечном итоге к склерозированию В двух наблюдениях ателектатического участка. этому предшествовала инфильтрация ателектатического участка клеточными элементами, чаще лимфоцитами. Следует отметить, что большинству образовавшихся ателектазов была свойственна персистенция, и именно она и составляла сущность данного модуля.

Первоначально во всех ателектазах, независимо от места локализации, на светооптическом и электронномикроскопическом уровнях было возможно различить сближенные либо совмещенные межальвеолярные перегородки и кровеносные капилляры с мелким, едва различимым просветом. В участке ателектаза по-прежнему было много разнообразных клеточных элементов: с одной стороны, составляющие АГБ альвеолоцитов различных типов и эндотелиоцитов, а с другой стороны, макрофаги, лимфоциты, фибробласты. Этот временной промежуток, локализованный на стыке 4 и 5 периодов и соответствующий примерно 50-ым – 60-ым суткам эксперимента, также был обозначен нами как критический. Отличительной особенностью является четкое выделение двух векторов развития ателектазов независимо от их локализации: разрешения с

122

полным или частичным восстановлением воздушности легочной ткани, либо переход в хроническую стадию с последующим развитием фиброателектаза, либо фокуса пневмосклероза. В случае разрешения ателектаза в паренхиме легкого наблюдали инфильтрации, стихание клеточной уменьшение толщины межальвеолярных перегородок, которому соответствовало расширение просвета альвеол и альвеолярных ходов. Регистрировали прогрессирующее увеличение как И фракционного содержания фосфолипидов CT. Ha суммарного, так ультраструктурном уровне восстановление структурных элементов АГБ занимало более продолжительный период времени. Комплекс морфологических изменений до периода восстановления воздушности легочной паренхимы в той или иной степени был определен нами как паренхиматозный ателектаз (дистелектаз). В случае констатации перехода ателектаза в хроническую стадию, количество клеточных элементов, составляющих АГБ, уменьшалось. Сам инфильтрат становился все более однородным, а ателектаз приобретал клеточный характер. волокнистой При появлении, а в некоторых случаях и преобладании, составляющей в участке ателектаза последний мы характеризовали как клеточноволокнистый. К завершению эксперимента волокнистая составляющая доминировала повсеместно (волокнистый ателектаз), участок ателектаза все более приобретал характеристики, свойственные соединительнотканному рубцу. Соединительная ткань при использовании СЭМ была представлена большей частью цилиндрическими коллагеновыми волокнами, имевших форму спиралей, соединенных между собой системой связочных волокон. Участок висцеральной плевры, покрывающей поле ателектаза, был утолщен, несколько деформирован, имел бугристый вид. Ателектазы, располагавшиеся более дистально по отношению лучу радиации и расположенные, как мы уже отмечали мозаично, трансформировались в мелкие фокусы склероза.

Таким образом, после развившегося ателектаза на его месте имело место разрастание соединительной ткани в виде крупного рубца или мелкой прослойки – крупноочаговый и/или мелкоочаговый (диффузный) пневмосклероз, либо их сочетание. Компенсаторная реакция в окружающих ателектаз участках

(периателектатических зонах) была представлена перифокальной эмфиземой. В ходе эксперимента была отмечена очень важная его особенность, заключающаяся в том, что при всех прочих равных условиях далеко не у всех животных формировались ателектазы. С этой целью, а также для понимания феномена увеличения суммарного содержания фосфолипидов СТ в жидкости БАЛ после завершения периода формирования предателектатических изменений, в работе была дана оценка состоянию не только альвеолоцитов второго типа, но и прочих сурфактант-регулирующих и сурфактант-модулирующих клеточных элементов, имея в виду булавовидные клетки. При исследовании экспериментальных животных, у которых монофакторные субплевральные сурфактантзависимые ателектазы вообще не образовывались, и, таким образом, отсутствовал второй морфогенетический период, а интрапульмонарные мультифакторные ателектазы наблюдали исключительно редко, с помощью ИГХ реакции с антителами к СС16 была отмечена адекватная функция, а на ультраструктурном уровне и сохранённая популяция булавовидных клеток в местах их постоянной дислокации. Это обстоятельство также объясняет и постепенное увеличение суммарного содержания фосфолипидов ЛС в лаважной жидкости после достижения ими критического минимума в первом модуле.

Еще одним из факторов, влияющих и определяющих частоту возникновения ателектазов, является степень развития И выраженность оксидативного (окислительного) стресса, возникающего в легочной ткани после лучевого воздействия и идентифицируемого при помощи рамановской спектроскопии. Спектральные характеристики паренхимы легких у экспериментальных животных, несмотря на внешнее сходство, отличались индивидуальностью в части, касающейся основных показателей спектров: инициальной, максимальной и остаточной флуоресценций. Начиная с третьего периода у некоторых, в четвертом периоде у значительной части, в пятом периоде у большинства животных спектр приобретал форму двух совмещенных парабол (двухволновая форма), между которыми наблюдали участок пониженной флуоресценции. Первый пик флуоресценции (локальный максимум) был обусловлен повышением

концентрации в образцах легочной ткани флавинадениндинуклеотида (ФАД), а второй – гемоглобина. ФАД в качестве кофермента может соединяться с различными белками-апоферментами, для осуществления ими ферментативной активности. В цикле трикарбоновых кислот (цикле Кребса), являющемся ключевым в осуществлении дыхания всеми клетками, использующими кислород, ФАД выполняет роль простетической группы фермента сукцинатдегидрогеназы (СДГ). В нашем наблюдении идентификация ФАД и корреспондирующее ей увеличение концентрации гемоглобина в тканях означает начало нормализации сосудистой функции и преобладание аэробного окисления над анаэробным, доминировавшем в условиях оксидативного стресса и гипоксии. При исследовании клинического, преимущественно секционного материала, мы были лишены возможности изучить морфологически инициальные предателектатические изменения легочной паренхимы, предваряющие развитие ателектазов до их идентификации при помощи рентгеновской компьютерной томографии. Вместе с тем, на основании анализа доступных литературных источников [12, 40, 7] представляется возможным сделать вывод 0 некоторой стереотипности инициальных изменений легочной паренхимы и схожести патогистологических характеристик клинического и экспериментального материала. У лиц, получавших лучевое воздействие в комплексном лечении РМЖ и не имевших проявлений патологии со стороны лёгких и воздухопроводящих путей, ателектазы возникали, прежде всего, субплеврально и лишь затем интрапульмонарно. В большинстве случае на КТ было выявлено сочетание ателектазов обеих локализаций. Прочие особенности, например, количество, площадь и т.д., выявленные в эксперименте и зависящие от локализации ателектаза, на клиническом материале статистически не нашли подтверждения. Также было установлено, что значение высоты и площади эпителиальной выстилки бронхиол в клинике не играют статистически значимой роли в реализации обтурационного механизма. В отличие от эксперимента, при котором на определенном сроке АФК на спектрах не идентифицировались вовсе, в образцах легких, полученных от лиц, страдавших РМЖ и получавших лучевое лечение, определялось количество АФК, BO всех случаях различное

125

свидетельствующее о персистенции оксидативного стресса и сопряженности последнего с опухолью.

выводы

1. В результате однократного локального рентгеновского облучения в дозе 12 Гр после непродолжительного латентного периода в лёгких лабораторных животных формируются альтеративные изменения эндотелиоцитов и альвеолоцитов I и II типов, уменьшение на 20% суммарного содержания фосфолипидов легочного сурфактанта.

2. воздействии При радиоиндуцированном эксперименте В первоначально возникающие субплевральные ателектазы являются сурфактантзависимыми, монофакторными, поскольку прочие изменения в паренхиме, строме И воздухопроводящих путях не играют статистически значимой роли. Формирующиеся в дальнейшем интрапульмонарные ателектазы являются многофакторными, развивающимися на фоне сохраняющегося качественного дефицита фосфолипидов сурфактанта И реализации гипоксического И обтурационного механизмов.

3. В основе обтурационного механизма, играющего ведущую роль в возникновении прогрессировании интрапульмонарных И ателектазов, при радиационно-индуцированном повреждении лёгких, лежит существенное лимитирование просвета бронхиол за счет сокращения гладких миоцитов до 27% (контроль 18,2%), увеличения высоты до 0,029 µm (контроль 0,025 µm) и площади 20,5 µm² (контроль 16,5 µm²) эпителиальной выстилки бронхиол и формирования серозно-слизистого экссудата.

4. Морфогенез ателектазов завершается, с одной стороны, развитием фиброателектазов, что проявляется увеличением доли безвоздушных участков от 62,2% до 78,3% (контроль 47,0%) и, с другой стороны, развитием перифокальной компенсаторной эмфиземы по периферии, что проявляется увеличением площади просвета альвеол к 50 суткам эксперимента в среднем до 702 μm²по сравнению с контролем (640 μm²)

5. Ателектазы, формирующиеся у лиц, не имеющих признаков легочной патологии, страдающих раком молочной железы и получающих лучевое лечение,

127

часто реализуются сочетанно. При этом, обтурационный механизм не играет существенной роли в их возникновении и развитии, а первостепенное значение имеет персистенция оксидативного стресса, выражающаяся в доминировании активных форм кислорода и сопряженных с ним расстройствами кровообращения, гипоксией и дефицитом сурфактанта.

6. Раман-спектроскопическое исследование, применяемое для диагностики и оценки процессов, происходящих в лёгочной ткани при развитии ателектазов, позволяет на основании анализа получаемых спектров идентифицировать изменения, составляющие сущность каждого периода морфогенеза (оксидативный стресс, альтеративные изменения, расстройства кровообращения и т.д.)

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Учитывая определяющий характер дефицита сурфактанта для возникновения и развития ателектазов легкого представляется целесообразным рекомендовать его применение с целью профилактики последних, предусмотрев его введение после лучевого воздействия с целью исключения потерь сурфактанта, возникающих в результате радиолиза фосфолипидов и иных его составляющих под действием ионизирующего излучения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- АГБ аэрогематический барьер
- АІ, АІІ альвеолоцит І и ІІ типа
- АФК активные формы кислорода
- БАЛ бронхо-альвеолярный лаваж
- БК булавовидная клетка
- ВЭ высота эпителиальной выстилки
- ДНК дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИГХ иммуногистохимическое исследование
- ИЗЛ интерстициальные заболевания легких
- ИИ ионизирующее излучение
- Л-лимфоцит
- МАП межальвеолярные перегородки
- МИ морфометрическое исследование
- МФ макрофаг
- ОПТ осмиофильные пластинчатые тельца
- ПА площадь альвеол
- ПМЯЛ полиморфноядерный лейкоцит
- ПСГМ процент сокращения гладких миоцитов
- ПЭВ площадь эпителиальной выстилки
- РИО расстояние источник-опухоль
- РИПЛ радиоиндуцированное повреждение легких
- РМЖ рак молочной железы
- РП радиационный пневмонит
- РФ- радиационный фиброз
- РНК рибонуклеиновая кислота
- СОД суммарная очаговая доза
- СТ сурфактант
- СЭМ сканирующая электронная микроскопия
- ТЭМ трансмиссионная электронная микроскопия

ФА – фиброателектаз

ФАД – флавинадениндинуклеотид

ФБ – фибробласт

ФЛ – фосфолипиды

ЦСГП – цифровой снимок гистологического препарата

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЭК – эндотелиальная клетка (эндотелиоцит)

ROC – receiver operating characteristic, график, позволяющий оценить качество бинарной классификации

AUC – area under curve, площадь под кривой ROC

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С.Н. Роль и значение ингаляционных глюкокортикостероидов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких: современные рекомендации. Заключение совета экспертов. / С.Н. Авдеев, З.Р. Айсанов, В.В. Архипов, А.С. Белевский, И.В. Лещенко, А.И. Синопальников // Пульмонология. – 2019. – Т. 29(5) – С. 632–636.

Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г.
 Автандилов. – М.: Медицина, 1990.

3. Александров, М.Т. Экспериментально-теоретическое обоснование принципов и особенностей применения метода лазерно-конверсионной диагностики для оценки состояния твердых тканей зуба в норме и при патологии (кариес) / М.Т. Александров, С.В. Зубов, А.С. Березинская, В.И. Кукушкин, Е.П. Пашков, О.Н. Иванченко // Российский стоматологический журнал. – 2013. – № 4.

4. Александров, Н.С. Использование метода раман-флуоресцентной спектроскопии для диагностики светлоклеточного почечно-клеточного рака / Н.С. Александров, С.Т. Авраамова, Ю.А. Кириллов, Т.О. Бабичева, В.И. Кукушкин, Д.Н. Артемьев // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – Т. 4(24) – С. 59–65.

 Баринов, В.С. Комплексное обследование больных при подозрении на абдоминальный туберкулез с использованием малоинвазивных технологий / В.С. Баринов, Б.М. Ариэль, М.А. Соловьева // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – Т. 1 – С. 45-49.

 Березовский, М.Е. Структура альвеолярной стенки при обструктивных ателектазах легких у детей / М.Е. Березовский, Е.И. Албац, А.И. Клембовский, В.М. Сергеев // Архив патологии. – 1979. – Т. 41 – № 2 – С. 25–31.

7. Биопсия в пульмонологии. Библиотека патологоанатома. / И.В. Двораковская, А.Л. Акопов, Б.М. Ариэль, и др. – СПб, 2011.

8. Двораковская, И.В. Патологическая анатомия поражения сосудов при гриппе и вирусно-бактериальной пневмонии / И.В. Двораковская, О.Н. Титова,

Б.М. Ариэль, И.С. Платонова, В.А. Волчков, Н.А. Кузубова // Русский медицинский журнал. – 2021. – Т. 3 – С. 3–7.

Дубровская, В.Ф. Модификация радиоиндуцированной патологии легких интратрахеальным введением фосфатидилхолин-холестериновых липосом / В.Ф. Дубровская, Ю.А. Кириллов, В.А. Волчков, О.В. Клестова // Пульмонология. – 1998. – Т. 2 – С. 74–78.

Ерохин, В.В. Сурфактантная система лёгких. – В кн.: Клеточная биология легких в норме и при патологии / Под ред. В.В. Ерохина, Л.К. Романовой.
 / В.В. Ерохин, Л.К. Романова. – М.: Медицина – 2000.

11. Есипова, И.К. Постнатальная перестройка малого круга кровообращения и ателектаз новорожденных / И.К. Есипова, О.Я. Кауфман. – Ленинград: Медицина, 1968.

Есипова, И.К. Синдром острой респираторной недостаточности
 взрослых («Шоковое легкое») / И.К. Есипова // Архив патологии. – 1979. – Т. 41, №
 1 – С. 66–72.

 Каминская, Г.О. Оксид азота – его биологическая роль и участие в патологии органов дыхания. / Г.О. Каминская // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2004. – № 6 – С. 3–11.

 Кириллов, Ю.А. Влияние сурфактанта легких крупного рогатого скота на течение блеомицин-индуцированной патологии легких крыс. / Ю.А. Кириллов,
 В.Ф. Дубровская, А.А. Сейлиев, и др // Пульмонология. – 1998. – Vol. 3 – Р. 51–55.

 Кириллов, Ю.А. Морфогенез экспериментального фиброзирующего альвеолита и современные технологии его коррекции. дис. д-ра мед. наук. / Ю.А. Кириллов. – Москва, 2005. – 245 с.

Кириллов, Ю.А. Морфогенез ателектазов легких при экспериментальном радиоиндуцированном воздействии / Ю.А. Кириллов, И.А. Чернов, Е.М. Малышева, С.Е. Тимофеев, и др. // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2020. – Т. 9 – № 1.

17. Кириллов, Ю.А. Оксидативный стресс и эндотелиальная дисфункция в развитии экспериментального радиоиндуцированного повреждения легких и их

коррекция препаратом легочного сурфактанта. / Ю.А. Кириллов, И.А. Чернов, Е.М. Малышева, С.Е. Тимофеев, и др. // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2020. – Т. 9(1) – С. 35–42.

Клинические рекомендации «Рак пищевода и кардии» (утв.
 Минздравом России) [Электронный ресурс] / Клинические рекомендации. – 2020.
 – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/237 5 (дата обращения: 12.11.2021).

19. Клинические рекомендации «Опухоли средостения» (утв. Минздравом России) [Электронный ресурс] / Клинические рекомендации. – 2020. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/502 1 (дата обращения: 12.11.2021).

20. "Клинические рекомендации «Злокачественное новообразование бронхов и легкого» (утв. Минздравом России) [Электронный ресурс] / "Клинические рекомендации. – 2021. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/30_3 (дата обращения: 12.11.2021).

21. Клинические рекомендации Рак молочной железы (утв. Минздравом России) [Электронный ресурс] / Клинические рекомендации. – 2021. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/379 4 (дата обращения: 12.11.2021).

22. Лехин, И.В. Словарь иностранных слов / И.В. Лехин, Ф.Н. Петров. –
 М.: Государственное издательство иностранных и национальных словарей, 1949. –
 813 с.

23. Магомедов, М.К. Морфология ателектаза лёгких у оперированных и неоперированных больных с учетом состояния легочного сурфактанта / М.К. Магомедов, Г.П. Титова, М.В. Баринова // Архив патологии. – 1979. – Т. 41 – № 11 – С. 57–64.

24. Никифоров, М.Н. Основы патологической анатомии / М.Н. Никифоров, А.И. Абрикосов. – Москва; Лениград: Гос. изд-во, 1926.

25. Пальцын, А.А. Врач-философ — Донат Семенович Саркисов (к 90летию со дня рождения) / А.А. Пальцын // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014. – Т. 58 – № 4 – С. 139–145.

26. Пермяков А.В. Сравнительная оценка макро- и микроскопического исследования легких у детей грудного и раннего возраста, умерших скоропостижно

/ Пермяков А.В., Чуракова С.Е. // Вопросы физиологии и патологии кровообращения и дыхания. – 1966. – С. 80–82.

27. Рабинович, Р.М. Рентгеноморфологические параллели изменений легких и сердца при облучении грудной клетки у больных с опухолями молочной железы и средостения / Р.М. Рабинович, Б.М. Ариэль // Клинические и экспериментальные исследования в лучевой терапии: докл. научн. сессии ЦНИИ рентгенорадиологии МЗ СССР. – Л., 1964.

28. Радиационная медицина : учеб. пособие / А.Н. Гребенюк, В.И. Легеза,
В.И. Евдокимов, Д.А. Сидоров. – Ч. I : Основы биологического действия радиации
– СПб. : Политехника-сервис, 2013. – 123 с.

29. Рафальский, В.В. Перспективы применения метода спектроскопии комбинационного рассеяния света (рамановской спектроскопии) в кардиологии / В.В. Рафальский, А.Ю. Зюбин, Е.М. Моисеева, И.Г. Самусев // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2020. – Т. 19 – № 1 – С. 70–77.

30. Рогаткин, Д.А. Лазерная клиническая диагностика. как одно из перспективных направлений биомедицинской радиоэлектроники// Биомедицинская радиоэлектроника / Д.А. Рогаткин // Биомедицинская радиоэлектроника. – 1998. – Т. 3 – С. С.34-36.

31. Розенберг, О.А. Препараты легочного сурфактанта при острых и хронических заболеваниях легких (часть I) / О.А. Розенберг // Общая реаниматология. – 2014. – Т. 10(4) – С. 51–73.

32. Самсонова, М.В. Патологическая анатомия легких и особенности рака легкого при ингаляционном поражении многокомпонентной пылью после аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленные сроки: диссертация доктора медицинских наук. / М.В. Самсонова. – Москва, 2005. – 151 с.

 Саркисов, Д.С. Рекомбинации как механизм многообразия в явлениях природы / Д.С. Саркисов. – Москва, 1999. – 372 с.

34. Сачек, М.Г. Функциональные и морфологические изменения в легком при ателектазе и восстановление их после реаэрации : эксперим.-клинич. исслед. /

М.Г. Сачек // Проблемы легочной хирургии : сб. науч. тр. к 70-летию акад. АМН СССР Л. К. Богуша. – 1975. – С. 188–189.

35. Сорокина, Е.А. Поражение легких при сочетанной химио- и рентгенотерапии лимфомы / Е.А. Сорокина, А.Л. Черняев, О.Д. Захаров, М.В. Самсонова // Пульмонология. – 2007. – Т. (2) – С. 122–125.

36. Сперанская, А.А. Лучевая и морфологическая картина фиброзирующих болезней легких: от ранних признаков до исхода / А.А. Сперанская, Л.Н. Новикова, И.В. Двораковская, и др. // Лучевая диагностика и терапия. – 2020. – Т. 11(2) – С. 89–98.

Струков, А.И. Патологическая анатомия: учебник / А.И. Струков, В.В.
 Серов. – 5-е-е изд., стер изд. – Москва: Литтерра. – 880 с.

38. Тюрин, И.Е. Респираторная медицина. Руководство. Под редакцией академика РАМН А.Г.Чучалина: в 2 т. / И.Е. Тюрин. – ГЭОТАР-Медиа – Москва, 2007. – Т. 1 – с.317-319 с.

39. Черняев, А.Л. Ателектаз легких. В кн.: Клеточная биология легких в норме и при патологии: руководство для врачей / Под ред. В.В.Ерохина, Л.К.Романовой. / А.Л. Черняев. – М.: Медицина, 2000. – Т. 1 – С. 384–385.

40. Чухриенко, Д.П. Ателектаз легких / Д.П. Чухриенко, Н.Д. Чухриенко. – Киев:Здоровье, 1979. – 184 с.

41. Шаваева, Р.Х. Определение пула каротиноидов с использованием резонансной рамановской спектроскопии у беременных с преэклампсией / Р.Х. Шаваева, В.И. Кукушкин, Д.Н. Артемьев, и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2021. – Т. 20 – № 1 – С. 41–46.

42. Шляпников, В.Н. Ателектаз и ателектатическая пневмония. / В.Н. Шляпников. – Куйбышев: Куйбышевский медицинский институт им. Д. И. Ульянова, 1978. – 140 с.

43. Ярмоненко, С.П. Радиобиология человека и животных / С.П. Ярмоненко. – Москва: Высшая школа, 1988. – 424 с.

44. Abbott, T.E.F. A systematic review and consensus definitions for standardised end-points in perioperative medicine: pulmonary complications / T.E.F.

Abbott, A.J. Fowler, P. Pelosi, M.G. De Abreu, A.M. Møller, J. Canet, B. Creagh-Brown, M. Mythen, T. Gin, M.M. Lalu // British journal of anaesthesia. – Elsevier, 2018. – Vol. $120 - N_{2} 5 - P$. 1066–1079.

45. Acosta, C.M. Prevention of atelectasis by continuous positive airway pressure in anaesthetised children: A randomised controlled study / C.M. Acosta, M.P.L. Vargas, F. Oropel, L. Valente, L. Ricci, M. Natal, F.S. Sipmann, G. Tusman // European Journal of Anaesthesiology EJA. – LWW, 2021. – Vol. 38 – N_{2} 1 – P. 41–48.

46. Ahmad, K. Interstitial pneumonia with autoimmune features: Clinical, radiologic, and histological characteristics and outcome in a series of 57 patients. / K. Ahmad, T. Barba, D. Gamondes, M. Ginoux, C. Khouatra, P. Spagnolo, M. Strek, F. Thivolet-Béjui, J. Traclet, V. Cottin // Respiratory medicine. – England, 2017. – Vol. 123 – P. 56–62.

47. Appel, S. Reexpansion of atelectasis caused by use of continuous positive airway pressure (CPAP) before radiation therapy (RT). / S. Appel, N. Weizman, T. Davidson, D. Urban, Y.R. Lawrence, Z. Symon, J. Goldstein // Advances in radiation oncology. -2016. - Vol. $1 - N \ge 2 - P$. 136–140.

48. Arroyo-Hernández, M. Radiation-induced lung injury: current evidence / M.
Arroyo-Hernández, F. Maldonado, F. Lozano-Ruiz, W. Muñoz-Montaño, M. Nuñez-Baez, O. Arrieta // BMC Pulmonary Medicine. – 2021. – Vol. 21 – № 1 – Р. 9.

49. Artemyev, D.N. Using the Method of "Optical Biopsy" of Prostatic Tissue to Diagnose Prostate Cancer. / D.N. Artemyev, V.I. Kukushkin, S.T. Avraamova, N.S. Aleksandrov, Y.A. Kirillov // Molecules (Basel, Switzerland). $-2021. - Vol. 26 - N_{2} 7$.

50. Aso, S. Severity of radiation pneumonitis, from clinical, dosimetric and biological features: a pilot study. / S. Aso, A. Navarro-Martin, R. Castillo, S. Padrones, E. Castillo, A. Montes, J.I. Martínez, N. Cubero, R. López, L. Rodríguez, R. Palmero, F. Manresa, T. Guerrero, M. Molina // Radiation oncology (London, England). – 2020. – Vol. $15 - N_{2} 1 - P. 246$.

51. Baek, S.-J. Baseline correction using asymmetrically reweighted penalized least squares smoothing / S.-J. Baek, A. Park, Y.-J. Ahn, J. Choo // Analyst. – The Royal Society of Chemistry, 2015. – Vol. 140 – N_{2} 1 – P. 250–257.

52. Bangham, A.D. Lung surfactant: How it does and does not work / A.D.
Bangham // Lung. – 1987. – Vol. 165 – № 1 – P. 17–25.

53. Bankhead, P. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis / P. Bankhead, M.B. Loughrey, J.A. Fernández, Y. Dombrowski, D.G. McArt, P.D. Dunne, S. McQuaid, R.T. Gray, L.J. Murray, H.G. Coleman, J.A. James, M. Salto-Tellez, P.W. Hamilton // Scientific Reports. – 2017. – Vol. 7 – № 1 – P. 16878.

54. Barker, H.E. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. / H.E. Barker, J.T.E. Paget, A.A. Khan, K.J. Harrington // Nature reviews. Cancer. $-2015. - Vol. 15 - N \circ 7 - P. 409-425.$

55. Barnes, P.J. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in asthma. Report of a workshop held in Eze, France, October 1992. / P.J. Barnes, S. Pedersen // The American review of respiratory disease. – United States, 1993. – Vol. 148 – № 4 Pt 2 – P. S1-26.

56. Barthelemy-Brichant, N. Increased IL-6 and TGF-beta1 concentrations in bronchoalveolar lavage fluid associated with thoracic radiotherapy. / N. Barthelemy-Brichant, L. Bosquée, D. Cataldo, J.-L. Corhay, M. Gustin, L. Seidel, A. Thiry, B. Ghaye, M. Nizet, A. Albert, J.-M. Deneufbourg, P. Bartsch, B. Nusgens // International journal of radiation oncology, biology, physics. – United States, 2004. – Vol. $58 - N_{2} - 758 - 767$.

57. Beike, L. Surfactant dysfunction and alveolar collapse are linked with fibrotic septal wall remodeling in the TGF- β 1-induced mouse model of pulmonary fibrosis / L. Beike, C. Wrede, J. Hegermann, E. Lopez-Rodriguez, C. Kloth, J. Gauldie, M. Kolb, U.A. Maus, M. Ochs, L. Knudsen // Laboratory Investigation. – 2019. – Vol. 99 – No 6 – P. 830–852.

58. Birech, Z. Application of Raman spectroscopy in type 2 diabetes screening in blood using leucine and isoleucine amino-acids as biomarkers and in comparative antidiabetic drugs efficacy studies. / Z. Birech, P.W. Mwangi, F. Bukachi, K.M. Mandela // PloS one. – 2017. – Vol. 12 – N_{2} 9 – P. e0185130.

59. Bjaanæs, M.M. Improved adaptive radiotherapy to adjust for anatomical alterations during curative treatment for locally advanced lung cancer / M.M. Bjaanæs,

E.P.S. Sande, Ø. Loe, C. Ramberg, T.M. Næss, A. Ottestad, L.V. Rogg, J.G. Svestad, V.D. Haakensen // Physics and Imaging in Radiation Oncology. – 2021. – Vol. 18 – P. 51–54.

60. Bolourani, S. The interplay of DAMPs, TLR4, and proinflammatory cytokines in pulmonary fibrosis / S. Bolourani, M. Brenner, P. Wang // Journal of Molecular Medicine. $-2021. - Vol. 99 - N \ge 10 - P. 1373 - 1384.$

61. Bratchenko, L. Conventional Raman and surface-enhanced Raman spectroscopy of ascitic fluid / L. Bratchenko, I. Bratchenko, D. Artemyev, A. Moryatov, J. Starikova, E. Tupikova, I. Platonov, S. Kozlov, V. Zakharov // Journal of Physics: Conference Series. – 2019. – Vol. 1368 – P. 022032.

62. Bulbul, Y. Pulmonary atelectasis and survival in advanced non-small cell lung carcinoma / Y. Bulbul, B. Eris, A. Orem, A. Gulsoy, F. Oztuna, T. Ozlu, S. Ozsu // Upsala journal of medical sciences. – Informa Healthcare, 2010. – Vol. 115 – N_{2} 3 – P. 176–180.

63. Cereda, M. Hyperpolarized gas diffusion MRI for the study of atelectasis and acute respiratory distress syndrome / M. Cereda, Y. Xin, S. Kadlecek, H. Hamedani, J. Rajaei, J. Clapp, R.R. Rizi // NMR in biomedicine. -2014/06/11 ed. -2014. - Vol. 27 - N $_{2}$ 12 - P. 1468–1478.

64. Checker, R. Chemical and biological basis for development of novel radioprotective drugs for cancer therapy / R. Checker, R.S. Patwardhan, S. Jayakumar, D.K. Maurya, M. Bandekar, D. Sharma, S.K. Sandur // Free Radical Research. – Taylor & Francis, 2021. – P. 1–31.

65. Childs, B.G. Cellular Identification and Quantification of Senescence-Associated β-Galactosidase Activity In Vivo. / B.G. Childs, T.J. Bussian, D.J. Baker // Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). – 2019. – Vol. 1896 – P. 31–38.

66. Choi, J. Inflammatory Signals Induce AT2 Cell-Derived Damage-Associated Transient Progenitors that Mediate Alveolar Regeneration / J. Choi, J.-E. Park, G. Tsagkogeorga, M. Yanagita, B.-K. Koo, N. Han, J.-H. Lee // Cell Stem Cell. – Elsevier, 2020. – Vol. 27 – N_{2} 3 – P. 366-382.e7. 67. Chung-Park, M. Shrinking pleuritis with lobar atelectasis, a morphologic variant of "round atelectasis" / M. Chung-Park, J.F. Tomashefski, A.M. Cohen, M. El-Gazzar, E.E. Cotes // Human Pathology. – 1989. – Vol. 20 - N = 4 - P. 382–387.

68. Colunga Biancatelli, R.M.L. Age-Dependent Chronic Lung Injury and Pulmonary Fibrosis following Single Exposure to Hydrochloric Acid. / R.M.L. Colunga Biancatelli, P. Solopov, C. Dimitropoulou, J.D. Catravas // International journal of molecular sciences. $-2021. - Vol. 22 - N_{\rm P} 16$.

69. Comaru, T. Experimental Model of Atelectasis in Newborn Piglets / T. Comaru, H.H. Fiori, R.M. Fiori, P. Padoim, J.B. Stivanin, V.D. da Silva // Respiratory Care. -2014. - Vol. 59 - No 1 - P. 121.

70. Coppé, J.-. P. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression / J.-. P. Coppé, P.-. Y. Desprez, A. Krtolica, J. Campisi // Annu Rev Pathol Mech Dis. – 2010. – Vol. 5.

71. Corsetti, S. Raman spectroscopy for accurately characterizing biomolecular changes in androgen-independent prostate cancer cells. / S. Corsetti, T. Rabl, D. McGloin, G. Nabi // Journal of biophotonics. – 2018. – Vol. 11 – № 3.

72. Croake, A. Atelectasis of the Entire Lung / A. Croake, M.F. Croake // Essential Radiology Review. – Springer, 2019. – P. 81–84.

73. Crow, P. Optical diagnostics in urology: current applications and future prospects. / P. Crow, N. Stone, C.A. Kendall, R.A. Persad, M.P.J. Wright // BJU international. – England, 2003. – Vol. $92 - N_{2} 4 - P. 400-407$.

74. Crow, P. The use of Raman spectroscopy to differentiate between different prostatic adenocarcinoma cell lines / P. Crow, B. Barrass, C. Kendall, M. Hart-Prieto, M. Wright, R. Persad, N. Stone // British journal of cancer. – Nature Publishing Group, 2005. – Vol. $92 - N_{2} 12 - P$. 2166–2170.

75. Crowley, G. Quantitative lung morphology: semi-automated measurement of mean linear intercept / G. Crowley, S. Kwon, E.J. Caraher, S.H. Haider, R. Lam, P. Batra, D. Melles, M. Liu, A. Nolan // BMC Pulmonary Medicine. $-2019. - Vol. 19 - N_{\odot} 1 - P. 206.$

76. Darby, I.A. Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis. / I.A.
Darby, T.D. Hewitson // International review of cytology. – United States, 2007. –
Vol. 257 – P. 143–179.

77. De Ruysscher, D. Radiotherapy toxicity / D. De Ruysscher, G. Niedermann, N.G. Burnet, S. Siva, A.W.M. Lee, F. Hegi-Johnson // Nature Reviews Disease Primers. $-2019. - Vol. 5 - N_{\rm P} 1 - P. 13.$

78. Dileto, C.L. Fibroblast radiosensitivity in vitro and lung fibrosis in vivo: comparison between a fibrosis-prone and fibrosis-resistant mouse strain / C.L. Dileto, E.L. Travis // Radiat Res. – 1996. – T. 146.

79. Dingari, N.C. Raman spectroscopy provides a powerful diagnostic tool for accurate determination of albumin glycation. / N.C. Dingari, G.L. Horowitz, J.W. Kang, R.R. Dasari, I. Barman // PloS one. – 2012. – Vol. 7 – N $^{\circ}$ 2 – P. e32406.

80. Diot, Q. Lung deformations and radiation-induced regional lung collapse in patients treated with stereotactic body radiation therapy. / Q. Diot, B. Kavanagh, Y. Vinogradskiy, K. Garg, L. Gaspar, M. Miften // Medical physics. – United States, 2015. – Vol. $42 - N_{2} 11 - P. 6477-6487$.

81. Dobbs, L.G. Pulmonary surfactant. / L.G. Dobbs // Annual review of medicine. – United States, 1989. – Vol. 40 – P. 431–446.

82. Donovan, G.M. Pharmacological ablation of the airway smooth muscle layer-Mathematical predictions of functional improvement in asthma. / G.M. Donovan, K.C.W. Wang, D. Shamsuddin, T.S. Mann, P.J. Henry, A.N. Larcombe, P.B. Noble // Physiological reports. -2020. - Vol. $8 - N_{2} 11 - P$. e14451.

83. Draga, R.O.P. In vivo bladder cancer diagnosis by high-volume Raman spectroscopy. / R.O.P. Draga, M.C.M. Grimbergen, P.L.M. Vijverberg, C.F.P. van Swol, T.G.N. Jonges, J.A. Kummer, J.L.H. Ruud Bosch // Analytical chemistry. – United States, 2010. – Vol. 82 – № 14 – P. 5993–5999.

84. Drozsdik, E.J. Quantitative analysis of the potential role of basal cell hyperplasia in the relationship between clonal expansion and radon concentration / E.J. Drozsdik, B.G. Madas // Radiation protection dosimetry. – England, 2019. – Vol. 183 – $N_{\rm D} 1-2 - P. 237-241$.

85. Fellrath, J.M. Idiopathic pulmonary fibrosis/cryptogenic fibrosing alveolitis. / J.M. Fellrath, R.M. du Bois // Clinical and experimental medicine. – Italy, 2003. – Vol. 3 – $N_{2} 2 - P.65-83$.

86. Fernandez-Bustamante, A. Postoperative Pulmonary Complications, Early Mortality, and Hospital Stay Following Noncardiothoracic Surgery: A Multicenter Study by the Perioperative Research Network Investigators / A. Fernandez-Bustamante, G. Frendl, J. Sprung, D.J. Kor, B. Subramaniam, R. Martinez Ruiz, J.-W. Lee, W.G. Henderson, A. Moss, N. Mehdiratta, M.M. Colwell, K. Bartels, K. Kolodzie, J. Giquel, M.F. Vidal Melo // JAMA Surgery. – 2017. – Vol. 152 – N_{2} – P. 157–166.

87. Galeaz, C. Radiation Resistance: A Matter of Transcription Factors / C. Galeaz, C. Totis, A. Bisio // Frontiers in Oncology. – 2021. – Vol. 11 – P. 2055.

88. Gasse, P. IL-1R1/MyD88 signaling and the inflammasome are essential in pulmonary inflammation and fibrosis in mice. / P. Gasse, C. Mary, I. Guenon, N. Noulin, S. Charron, S. Schnyder-Candrian, B. Schnyder, S. Akira, V.F.J. Quesniaux, V. Lagente, B. Ryffel, I. Couillin // The Journal of clinical investigation. – 2007. – Vol. 117 – № 12 – P. 3786–3799.

89. Gillies, N.E. Radiation damage to cell membranes: insights from the oxygen effect. / N.E. Gillies // International journal of radiation biology. – England, 1997. – Vol. $71 - N_{0} 6 - P.643-648$.

90. Giuranno, L. Radiation-Induced Lung Injury (RILI) / L. Giuranno, J. Ient,
D. De Ruysscher, M.A. Vooijs // Frontiers in Oncology. – 2019. – Vol. 9 – P. 877.

91. Gong, T. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. / T. Gong, L. Liu, W. Jiang, R. Zhou // Nature reviews. Immunology. – England, 2020. – Vol. 20 – № 2 – P. 95–112.

92. GRAY, L.H. The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. / L.H. GRAY, A.D. CONGER, M. EBERT, S. HORNSEY, O.C. SCOTT // The British journal of radiology. – England, 1953. – Vol. 26 – N_{2} 312 – P. 638–648.

93. Greenberger, J.S. Review. Antioxidant gene therapeutic approaches to normal tissue radioprotection and tumor radiosensitization. / J.S. Greenberger, M.W. Epperly // In vivo (Athens, Greece). – Greece, 2007. – Vol. $21 - N_{2} - P$. 141–146.

94. Groarke, J.D. Cardiovascular complications of radiation therapy for thoracic malignancies: the role for non-invasive imaging for detection of cardiovascular disease. / J.D. Groarke, P.L. Nguyen, A. Nohria, R. Ferrari, S. Cheng, J. Moslehi // European heart journal. -2014. - Vol. 35 - N $_{2}$ 10 - P. 612–623.

95. Grott, K. Atelectasis / K. Grott, J.D. Dunlap // StatPearls. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2019.

96. Guo, L. Generation of Induced Progenitor-like Cells from Mature Epithelial Cells Using Interrupted Reprogramming. / L. Guo, G. Karoubi, P. Duchesneau, M.V. Shutova, H.-K. Sung, P. Tonge, C. Bear, I. Rogers, A. Nagy, T.K. Waddell // Stem cell reports. $-2017. - Vol. 9 - N_{\rm P} 6 - P. 1780-1795.$

97. Haefeli-Bleuer, B. Morphometry of the human pulmonary acinus. / B. Haefeli-Bleuer, E.R. Weibel // The Anatomical record. – United States, 1988. – Vol. 220 – $N_{2} 4 - P. 401-414$.

98. Hall, E.J. Cancer caused by x-rays--a random event? / E.J. Hall // The Lancet. Oncology. – England, 2007. – Vol. 8 – N_{2} 5 – P. 369–370.

99. Hamad, A.-M. Chronic atelectasis of the left lower lobe: a clinicopathological condition equivalent to middle lobe syndrome / A.-M. Hamad, E. Elmistekawy, E. Elatafy // Interactive cardiovascular and thoracic surgery. -2012/07/02 ed. - Oxford University Press, 2012. - Vol. 15 $- N_{\odot} 4 - P$. 618–621.

100. Hansel, C. Cellular Senescence in the Lung: The Central Role of Senescent Epithelial Cells / C. Hansel, V. Jendrossek, D. Klein // International journal of molecular sciences. – MDPI, 2020. – Vol. $21 - N_{2}9 - P$. 3279.

101. Hansell, D.M. Fleischner Society: glossary of terms for thoracic imaging. /
D.M. Hansell, A.A. Bankier, H. MacMahon, T.C. McLoud, N.L. Müller, J. Remy //
Radiology. – United States, 2008. – Vol. 246 – № 3 – P. 697–722.

102. Hawkins, P.G. Circulating microRNAs as biomarkers of radiation-induced cardiac toxicity in non-small-cell lung cancer. / P.G. Hawkins, Y. Sun, R.T. Dess, W.C.

Jackson, G. Sun, N. Bi, M. Tewari, J.A. Hayman, G.P. Kalemkerian, S.M. Gadgeel, T.S. Lawrence, R.K.T. Haken, M.M. Matuszak, F.-M.S. Kong, M.J. Schipper, S. Jolly // Journal of cancer research and clinical oncology. -2019. - Vol. 145 - N $_{2}$ 6 - P. 1635–1643.

103. Howard, R.S. Long term ventilation in neurogenic respiratory failure / R.S.
Howard, C. Davidson // Journal of Neurology, Neurosurgery & amp; Psychiatry. – 2003.
– Vol. 74 – № suppl 3 – P. iii24.

104. Hu, M.-C. Recruitment maneuvers to reduce pulmonary atelectasis after cardiac surgery: A meta-analysis of randomized trials / M.-C. Hu, Y.-L. Yang, T.-T. Chen, C.-I. Lee, K.-W. Tam // The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – Elsevier, 2020.

105. Hur, W. Molecular Pathogenesis of Radiation-Induced Cell Toxicity in Stem
Cells / W. Hur, S.K. Yoon // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. –
Vol. 18 – № 12.

106. Imlay, J.A. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium. / J.A. Imlay // Nature reviews. Microbiology. -2013. - Vol. 11 - N 7 - P. 443–454.

107. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th revision. In: ICD version:2016 [website]. Geneva: World Health Organization; 2016. – 2016.

108. Irwin, R.S. Spread the Word About the Journal in 2013: From Citation Manipulation to Invalidation of Patient-Reported Outcomes Measures to Renaming the Clara Cell to New Journal Features / R.S. Irwin, N. Augustyn, C.T. French, J. Rice, V. Tedeschi, S.J. Welch // Chest. – 2013. – Vol. 143 – N_{2} 1 – P. 1–4.

109. Jack, C.I. Indicators of free radical activity in patients developing radiation pneumonitis / C.I. Jack, B. Bottier, M.J. Jackson, L. Cassapi, W.D. Fraser, C.R. Hind // Int J Radiat Oncol Biol Phys. – 1996. – Vol. 34.

110. James, A.L. The use of the internal perimeter to compare airway size and to calculate smooth muscle shortening. / A.L. James, J.C. Hogg, L.A. Dunn, P.D. Paré //
The American review of respiratory disease. – United States, 1988. – Vol. 138 – № 1 – P. 136–139.

111. Jarzebska, N. Scarred Lung. An Update on Radiation-Induced Pulmonary
Fibrosis / N. Jarzebska, E.S. Karetnikova, A.G. Markov, M. Kasper, R.N. Rodionov, P.M.
Spieth // Frontiers in Medicine. – 2021. – Vol. 7 – P. 1100.

112. Jörg, E. De morbo pulmonum organico ex respiratione neonatorum imperfecta orto [Электронный ресурс] / E. Jörg. – Lipsiae: Nies, 1832. – URL: https://books.google.ru/books?id=F-HJmgEACAAJ (дата обращения: 15.10.2019).

113. Jörg, E. Die Foetuslunge im geborenen Kinde für Pathologie, Therapie und Gerichtsarzneiwissenschaft / E. Jörg. – Grimma: Gebhard, 1835.

114. Judge, J.L. The Lactate Dehydrogenase Inhibitor Gossypol Inhibits Radiation-Induced Pulmonary Fibrosis. / J.L. Judge, S.H. Lacy, W.-Y. Ku, K.M. Owens, E. Hernady, T.H. Thatcher, J.P. Williams, R.P. Phipps, P.J. Sime, R.M. Kottmann // Radiation research. – 2017. – Vol. 188 – N_{2} 1 – P. 35–43.

115. Karlsson, K. Retrospective cohort study of bronchial doses and radiationinduced atelectasis after stereotactic body radiation therapy of lung tumors located close to the bronchial tree. / K. Karlsson, J. Nyman, P. Baumann, P. Wersäll, N. Drugge, G. Gagliardi, K.-A. Johansson, J.-O. Persson, E. Rutkowska, O. Tullgren, I. Lax // International journal of radiation oncology, biology, physics. – United States, 2013. – Vol. $87 - N_{2} 3 - P. 590-595$.

116. Käsmann, L. Radiation-induced lung toxicity – cellular and molecular mechanisms of pathogenesis, management, and literature review / L. Käsmann, A. Dietrich, C.A. Staab-Weijnitz, F. Manapov, J. Behr, A. Rimner, B. Jeremic, S. Senan, D. De Ruysscher, K. Lauber, C. Belka // Radiation Oncology. – 2020. – Vol. 15 – $N_{\rm D}$ 1 – P. 214.

117. Kavanaugh, J. Anatomical Adaptation-Early Clinical Evidence of Benefit and Future Needs in Lung Cancer. / J. Kavanaugh, G.D. Hugo, C. Robinson, M. Roach // Seminars in radiation oncology. – 2019. – Vol. 29 3 – P. 274–283.

118. Klein, J.S. A Systematic Approach to Chest Radiographic Analysis. / J.S. Klein, M.L. Rosado-de-Christenson // Diseases of the Chest, Breast, Heart and Vessels

2019-2022: Diagnostic and Interventional Imaging / ed. by J. Hodler, R.A. Kubik-Huch, G.K. von Schulthess. – Cham (CH): Springer, 2019. – P. 1–16.

119. Koch, C.J. Oxygen Effects in Radiobiology / C.J. Koch // Hyperthermia / ed.
by H.I. Bicher, D.F. Bruley. – Boston, MA: Springer US, 1982. – P. 123–144.

120. Konrad, F.M. CXCR2 in Acute Lung Injury / F.M. Konrad, J. Reutershan // Mediators of Inflammation / ed. by D.D. Taub. – Hindawi Publishing Corporation, 2012.
– Vol. 2012 – P. 740987.

121. Krishna, C.M. Raman spectroscopy of breast tissues / C.M. Krishna, J. Kurien, S. Mathew, L. Rao, K. Maheedhar, K.K. Kumar, M. Chowdary // Expert Review of Molecular Diagnostics. – Taylor & Francis, 2008. – Vol. 8 – N_{2} 2 – P. 149–166.

122. Kruse, O.M.O. Pixel classification methods for identifying and quantifying leaf surface injury from digital images / O.M.O. Kruse, J.M. Prats-Montalbán, U.G. Indahl, K. Kvaal, A. Ferrer, C.M. Futsaether // Computers and Electronics in Agriculture. – 2014. – Vol. 108 – P. 155–165.

123. Lauber, K. Dying cell clearance and its impact on the outcome of tumor radiotherapy / K. Lauber, A. Ernst, M. Orth, M. Herrmann, C. Belka // Frontiers in Oncology. – 2012. – Vol. 2 – P. 116.

124. Li, Y. Progression of Anti-oxygen Therapy in Radiation-Induced Lung Injury. / Y. Li, Q. Song, Y. Yao, Y. Dong, Y. Gao, B. Wu // Zhongguo fei ai za zhi = Chinese journal of lung cancer. $-2019. - Vol. 22 - N_{\odot} 9 - P. 579-582.$

125. Li, F. Risk factors for radiation pneumonitis in lung cancer patients with subclinical interstitial lung disease after thoracic radiation therapy / F. Li, H. Liu, H. Wu, S. Liang, Y. Xu // Radiation Oncology. $-2021. - Vol. 16 - N_{\odot} 1 - P. 70.$

126. Lierova, A. Cytokines and radiation-induced pulmonary injuries. / A. Lierova, M. Jelicova, M. Nemcova, M. Proksova, J. Pejchal, L. Zarybnicka, Z. Sinkorova // Journal of radiation research. -2018. - Vol. 59 - No 6 - P. 709–753.

127. Loomis, S.J. Genome-Wide Association Study of Serum Fructosamine and Glycated Albumin in Adults Without Diagnosed Diabetes: Results From the Atherosclerosis Risk in Communities Study. / S.J. Loomis, M. Li, N.M. Maruthur, A.S. Baldridge, K.E. North, H. Mei, A. Morrison, A.P. Carson, J.S. Pankow, E. Boerwinkle,

R. Scharpf, L.J. Rasmussen-Torvik, J. Coresh, P. Duggal, A. Köttgen, E. Selvin // Diabetes. -2018. -Vol. 67 - N = 8 - P. 1684 - 1696.

128. Lopez-Rodriguez, E. Lung surfactant metabolism: early in life, early in disease and target in cell therapy. / E. Lopez-Rodriguez, G. Gay-Jordi, A. Mucci, N. Lachmann, A. Serrano-Mollar // Cell and tissue research. – Germany, 2017. – Vol. 367 – $N_{2} 3 - P. 721-735$.

129. Loshakova, L. The structural changes in the lungs and the phospholipids of the pulmonary surfactant in experimental bleomycin-induced pneumosclerosis in rats / L. Loshakova, I. Kirillov, E. Lebedeva, A. Shul'ga, L. Zlotnikova, I. Alekseevskikh, L. Danilov, O. Rosenberg // Biulleten' eksperimental'noĭ biologii i meditsiny. – 1991. – Vol. 112 – P. 534–6.

130. Majid, O.A. The response of atelectasis from lung cancer to radiation therapy. / O.A. Majid, S. Lee, S. Khushalani, H.G. Seydel // International journal of radiation oncology, biology, physics. – United States, 1986. – Vol. $12 - N_{\odot} 2 - P. 231 - 232$.

131. Malaquin, N. Assessing Functional Roles of the Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP). / N. Malaquin, V. Tu, F. Rodier // Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). – United States, 2019. – Vol. 1896 – P. 45–55.

132. Matthiae, M. In-line whole blood fractionation for Raman analysis of blood plasma / M. Matthiae, X. Zhu, R. Marie, A. Kristensen // Analyst. – The Royal Society of Chemistry, 2019. – Vol. 144 – N_{2} 2 – P. 602–610.

133. McKleroy, W. 500 Million Alveoli from 30,000 Feet: A Brief Primer on Lung Anatomy. / W. McKleroy, K. Lyn-Kew // Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). – United States, 2018. – Vol. 1809 – P. 3–15.

134. Menzies, R. Round Atelectasis Pathologic and Pathogenetic Features / R. Menzies, R. Fraser // The American Journal of Surgical Pathology. $-1987. - T. 11 - N_{2}9$.

135. Møller, D.S. Adaptive radiotherapy of lung cancer patients with pleural effusion or atelectasis / D.S. Møller, A.A. Khalil, M.M. Knap, L. Hoffmann // Radiotherapy and Oncology. -2014. - Vol. $110 - N_{\odot} 3 - P$. 517–522.

136. Montero, A. Radiotherapy for non-malignant diseases / A. Montero // Reports of Practical Oncology & Radiotherapy. – 2013. – Vol. 18 – P. S14–S15.

137. Mori, R. Estimation of the radiation-induced DNA double-strand breaks number by considering cell cycle and absorbed dose per cell nucleus. / R. Mori, Y. Matsuya, Y. Yoshii, H. Date // Journal of radiation research. -2018. -Vol. $59 - N \ge 3 - P$. 253–260.

138. Mungunsukh, O. Captopril reduces lung inflammation and accelerated senescence in response to thoracic radiation in mice / O. Mungunsukh, J. George, E.A. McCart, A.L. Snow, J.J. Mattapallil, S.R. Mog, R.A.M. Panganiban, D.L. Bolduc, W.B. Rittase, R.M. Bouten, R.M. Day // Journal of Radiation Research. – 2021. – Vol. 62 – $N_{2} 2 - P. 236-248$.

139. Naidich, D.P. Computed tomography of lobar collapse: 2. Collapse in the absence of endobronchial obstruction. / D.P. Naidich, D.I. McCauley, N.F. Khouri, B.S. Leitman, D.H. Hulnick, S.S. Siegelman // Journal of computer assisted tomography. – United States, 1983. – Vol. 7 – N_{2} 5 – P. 758–767.

140. Nawaz, H. Comparison of subcellular responses for the evaluation and prediction of the chemotherapeutic response to cisplatin in lung adenocarcinoma using Raman spectroscopy / H. Nawaz, F. Bonnier, A. Meade, F. Lyng, H. Byrne // The Analyst. – 2011. – Vol. 136 – P. 2450–63.

141. Nguyen, T.K. Lung-protective mechanical ventilation for patients undergoing abdominal laparoscopic surgeries: a randomized controlled trial. / T.K. Nguyen, V.L. Nguyen, T.G. Nguyen, D.H. Mai, N.Q. Nguyen, T.A. Vu, A.N. Le, Q.H. Nguyen, C.T. Nguyen, D.T. Nguyen // BMC anesthesiology. – England, 2021. – Vol. 21 – $N_{\rm D} 1 - P.95$.

142. Odor, P.M. Perioperative interventions for prevention of postoperative pulmonary complications: systematic review and meta-analysis / P.M. Odor, S. Bampoe,
D. Gilhooly, B. Creagh-Brown, S.R. Moonesinghe // bmj. – British Medical Journal Publishing Group, 2020. – Vol. 368.

143. Or, M. A systematic review and meta-analysis of treatment-related toxicities of curative and palliative radiation therapy in non-small cell lung cancer / M. Or, B. Liu,

J. Lam, S. Vinod, W. Xuan, R. Yeghiaian-Alvandi, E. Hau // Scientific Reports. – 2021.
– Vol. 11 – № 1 – P. 5939.

144. Östberg, E. Minimizing atelectasis formation during general anaesthesiaoxygen washout is a non-essential supplement to PEEP / E. Östberg, U. Auner, M. Enlund, H. Zetterström, L. Edmark // Upsala journal of medical sciences. – 2017. – Vol. 122 – N_{2} 2 – P. 92–98.

145. Ozturk, K. Linear Atelectasis around the Hilum on Chest Radiography: A Novel Sign of Early Lung Cancer / K. Ozturk, E. Soylu, U. Topal // Journal of clinical imaging science. – Medknow Publications & Media Pvt Ltd, 2018. – Vol. 8 – P. 27–27.

146. Pandolfi, F. Key Role of DAMP in Inflammation, Cancer, and Tissue Repair.
/ F. Pandolfi, S. Altamura, S. Frosali, P. Conti // Clinical therapeutics. – United States,
2016. – Vol. 38 – № 5 – P. 1017–1028.

147. Paré, P.D. The comparative mechanics and morphology of airways in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. / P.D. Paré, B.R. Wiggs, A. James, J.C. Hogg, C. Bosken // The American review of respiratory disease. – United States, 1991. – Vol. 143 – N_{0} 5 Pt 1 – P. 1189–1193.

148. Parks, J. Stereotactic Body Radiation Therapy as Salvage for Intrathoracic Recurrence in Patients With Previously Irradiated Locally Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. / J. Parks, G. Kloecker, S. Woo, N.E. Dunlap // American journal of clinical oncology. – United States, 2016. – Vol. 39 – N_{2} 2 – P. 147–153.

149. Patel, T.P. Resorptive (obstructive) atelectasis / T.P. Patel, E.M. Karle, A. Krvavac // BMJ Case Reports. -2019. - Vol. $12 - N_{2} 11 - P$. e232405.

150. Pathology of the lungs / B. Corrin, A.G. Nicholson, M. Burke, A. Rice. – New York: Churchill Livingstone/Elsevier, 2011.

151. Peroni, D.G. Atelectasis: mechanisms, diagnosis and management / D.G.
Peroni, A.L. Boner // Paediatric Respiratory Reviews. – 2000. – Vol. 1 – № 3 – P. 274–278.

152. Popper, H. Pathology of Lung Disease / H. Popper. – Springer, Berlin, Heidelberg, 2017.

153. Ranganathan, P. Common pitfalls in statistical analysis: Logistic regression / P. Ranganathan, C.S. Pramesh, R. Aggarwal // Perspectives in clinical research. – Medknow Publications & Media Pvt Ltd, 2017. – Vol. 8 – N_{2} 3 – P. 148–151.

154. Ratikan, J.A. Radiation takes its Toll. / J.A. Ratikan, E.D. Micewicz, M.W.
Xie, D. Schaue // Cancer letters. – 2015. – Vol. 368 – № 2 – P. 238–245.

155. Ray, K. Pulmonary atelectasis in anaesthesia and critical care / K. Ray, A. Bodenham, E. Paramasivam // Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain. $-2014. - Vol. 14 - N \le 5 - P. 236 - 245.$

156. Reddy, S.P. Total atelectasis of the lung secondary to malignant airway obstruction. Response to radiation therapy. / S.P. Reddy, J.E. Marks // American journal of clinical oncology. – United States, 1990. – Vol. $13 - N_{\odot} 5 - P. 394-400$.

157. Ren, C. The risk and predictors for severe radiation pneumonitis in lung cancer patients treated with thoracic reirradiation. / C. Ren, T. Ji, T. Liu, J. Dang, G. Li // Radiation oncology (London, England). -2018. – Vol. $13 - N_{2} 1 - P$. 69.

158. Riley, J.Y. Imaging assessment of rounded atelectasis: A pictorial essay / J.Y. Riley, P. Naidoo // Journal of medical imaging and radiation oncology. – Wiley Online Library, 2018. – Vol. $62 - N_{2} 2 - P$. 211–216.

159. Riyahi, S. Quantifying local tumor morphological changes with Jacobian map for prediction of pathologic tumor response to chemo-radiotherapy in locally advanced esophageal cancer. / S. Riyahi, W. Choi, C.-J. Liu, H. Zhong, A.J. Wu, J.G. Mechalakos, W. Lu // Physics in medicine and biology. -2018. - Vol. 63 - N $_{2}$ 14 - P. 145020.

160. Romanò, F. The effect of viscoelasticity in an airway closure model. / F.
Romanò, M. Muradoglu, H. Fujioka, J.B. Grotberg // Journal of fluid mechanics. – 2021.
– Vol. 913.

161. Rosenberg, O.A. The Lung Surfactant and Immune System Response to Intratracheal Administration of "Empty" Liposomes / O.A. Rosenberg, Y.A. Kirilov, L.N. Danilov, L.V. Loshakova, E.S. Lebedeva, A.E. Shulga, T.P. Ses // Journal of Liposome Research. – Taylor & Francis, 1994. – Vol. $4 - N_{\odot} 1 - P. 203-212$.

162. Rua, J. Non-Obstructive Middle Lobe Syndrome: An Unusual Cause of Recurrent Pneumonia in an Elderly Woman / J. Rua, R. Marques, R. Silva, B. Gomes, J. Fortuna // European journal of case reports in internal medicine. – SMC Media Srl, 2018. – Vol. $5 - N_{\rm P} 1 - P.\ 000737-000737$.

163. Ruaro, B. The History and Mystery of Alveolar Epithelial Type II Cells: Focus on Their Physiologic and Pathologic Role in Lung / B. Ruaro, F. Salton, L. Braga, B. Wade, P. Confalonieri, M.C. Volpe, E. Baratella, S. Maiocchi, M. Confalonieri // International Journal of Molecular Sciences. $-2021. - Vol. 22 - N_{\odot} 5$.

164. Rubin, P. A perpetual cascade of cytokines postirradiation leads to pulmonary fibrosis / P. Rubin, C.J. Johnston, J.P. Williams, S. McDonald, J.N. Finkelstein // Int J Radiat Oncol Biol Phys. – 1995. – Vol. 33.

165. Rueden, C.T. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data / C.T. Rueden, J. Schindelin, M.C. Hiner, B.E. DeZonia, A.E. Walter, E.T. Arena, K.W. Eliceiri // BMC bioinformatics. – BioMed Central, 2017. – Vol. 18 – № 1 – P. 529–529.

166. Rugonyi, S. The biophysical function of pulmonary surfactant. / S. Rugonyi, S.C. Biswas, S.B. Hall // Respiratory physiology & neurobiology. -2008. $-Vol. 163 - N_{\rm P} 1-3 - P. 244-255$.

167. Ryter, S.W. Mechanisms of cell death in oxidative stress / S.W. Ryter, H.P.
Kim, A. Hoetzel, J.W. Park, K. Nakahira, X. Wang, A.M. Choi // Antioxid Redox Signal.
2007. – T. 9.

168. Sagar, A.-E.S. Incidence and Location of Atelectasis Developed During Bronchoscopy Under General Anesthesia: The I-LOCATE Trial / A.-E.S. Sagar, B.F. Sabath, G.A. Eapen, J. Song, M. Marcoux, M. Sarkiss, M.H. Arain, H.B. Grosu, D.E. Ost, C.A. Jimenez, R.F. Casal // CHEST. – Elsevier, 2020. – Vol. 158 – № 6 – P. 2658–2666.

169. Salaets, T. A semi-automated method for unbiased alveolar morphometry: Validation in a bronchopulmonary dysplasia model / T. Salaets, B. Tack, A. Gie, B. Pavie, N. Sindhwani, J. Jimenez, Y. Regin, K. Allegaert, J. Deprest, J. Toelen // PLOS ONE. – Public Library of Science, 2020. – Vol. 15 – N_{2} 9 – P. e0239562. 170. Sallon, C. Morphométrie du tissu pulmonaire : de la méthode manuelle à l'automatisation à haut débit / C. Sallon, D. Soulet, Y. Tremblay // Revue des Maladies Respiratoires. $-2017. - Vol. 34 - N_{2} 10 - P. 1072-1084.$

171. Salotti, J. Regulation of senescence and the SASP by the transcription factor
C/EBPβ. / J. Salotti, P.F. Johnson // Experimental gerontology. – England, 2019. –
Vol. 128 – P. 110752.

172. Salsabili, S. Fully automated estimation of the mean linear intercept in histopathology images of mouse lung tissue. / S. Salsabili, M. Lithopoulos, S. Sreeraman, A. Vadivel, B. Thébaud, A.D.C. Chan, E. Ukwatta // Journal of medical imaging (Bellingham, Wash.). $-2021. - Vol. 8 - N_{2} 2 - P. 027501.$

173. Schieber, M. ROS function in redox signaling and oxidative stress. / M. Schieber, N.S. Chandel // Current biology : CB. – 2014. – Vol. $24 - N_{2} 10 - P$. R453-462.

174. Schneider, C.A. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. / C.A.
Schneider, W.S. Rasband, K.W. Eliceiri // Nature methods. – 2012. – Vol. 9 – № 7 –
P. 671–675.

175. Schroeder, A.B. The ImageJ ecosystem: Open-source software for image visualization, processing, and analysis. / A.B. Schroeder, E.T.A. Dobson, C.T. Rueden, P. Tomancak, F. Jug, K.W. Eliceiri // Protein science : a publication of the Protein Society. $-2021. - Vol. 30 - N_{2} 1 - P. 234-249.$

176. Singh, J. Surfactant protein disorders in childhood interstitial lung disease /J. Singh, A. Jaffe, A. Schultz, H. Selvadurai // European Journal of Pediatrics. – 2021.

177. Skurikhin, E. Micellar Hyaluronidase and Spiperone as a Potential Treatment for Pulmonary Fibrosis / E. Skurikhin, P. Madonov, O. Pershina, N. Ermakova, A. Pakhomova, D. Widera, E. Pan, M. Zhukova, L. Sandrikina, A. Artamonov, A. Dygai // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22 – № 11.

178. Smith, T.A. Radioprotective agents to prevent cellular damage due to ionizing radiation / T.A. Smith, D.R. Kirkpatrick, S. Smith, T.K. Smith, T. Pearson, A. Kailasam, K.Z. Herrmann, J. Schubert, D.K. Agrawal // Journal of Translational Medicine. $-2017. - Vol. 15 - N_{\rm P} 1 - P. 232$.

179. Stathopoulos, G.T. Rounded atelectasis of the lung / G.T. Stathopoulos, M.T. Karamessini, A.E. Sotiriadi, V.G. Pastromas // Respiratory Medicine. $-2005. - Vol. 99 - N_{\rm P} 5 - P. 615-623.$

180. Su, L. Potential role of senescent macrophages in radiation-induced pulmonary fibrosis / L. Su, Y. Dong, Y. Wang, Y. Wang, B. Guan, Y. Lu, J. Wu, X. Wang, D. Li, A. Meng, F. Fan // Cell Death & Disease. $-2021. - Vol. 12 - N_{\odot} 6 - P. 527.$

181. Sumita, K. Re-irradiation for locoregionally recurrent tumors of the thorax: a single-institution, retrospective study / K. Sumita, H. Harada, H. Asakura, H. Ogawa, T. Onoe, S. Murayama, S. Nakamura, N. Tanigawa, T. Takahashi, T. Nishimura // Radiation Oncology (London, England). – 2016. – Vol. 11 – P. 104.

182. Sun, T.Y. Steroid-Sparing Therapy for Tyrosine Kinase Inhibitor-Induced Pneumonitis. / T.Y. Sun, A.W. Sung, J.W. Neal // Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer. – United States, 2019. – Vol. 14 – N_{2} 4 – P. e75–e77.

183. Tanabe, N. Analysis of airway pathology in COPD using a combination of computed tomography, micro-computed tomography and histology. / N. Tanabe, D.M. Vasilescu, M. Kirby, H.O. Coxson, S.E. Verleden, B.M. Vanaudenaerde, D. Kinose, Y. Nakano, P.D. Paré, J.C. Hogg // The European respiratory journal. – 2018. – Vol. 51 – N $_{2}$ 2.

184. Tannenberg, J. Pulmonary Atelectasis in Infancy and Adulthood / J. Tannenberg // Medical Society in the City of New York, Jubilee Volume 100 Anniversary. – 1960. – Vol. 100 – P. 472–504.

185. Tennyson, N. Effect of variations in atelectasis on tumor displacement during radiation therapy for locally advanced lung cancer / N. Tennyson, E. Weiss, W. Sleeman, M. Rosu, N. Jan, G.D. Hugo // Advances in Radiation Oncology. $-2017. - Vol. 2 - N \ge 1 - P. 19-26.$

186. Terasaki, Y. Hydrogen therapy attenuates irradiation-induced lung damage by reducing oxidative stress. / Y. Terasaki, I. Ohsawa, M. Terasaki, M. Takahashi, S. Kunugi, K. Dedong, H. Urushiyama, S. Amenomori, M. Kaneko-Togashi, N. Kuwahara, A. Ishikawa, N. Kamimura, S. Ohta, Y. Fukuda // American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology. – United States, 2011. – Vol. 301 – № 4 – P. L415-426.

187. Tong, C. Shock waves increase pulmonary vascular leakage, inflammation, oxidative stress, and apoptosis in a mouse model. / C. Tong, Y. Liu, Y. Zhang, P. Cong, X. Shi, Y. Liu, L. Shi Hongxu Jin, M. Hou // Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.). – 2018. – Vol. 243 – № 11 – P. 934–944.

188. Trovo, M. Stereotactic body radiation therapy for re-irradiation of persistent or recurrent non-small cell lung cancer. / M. Trovo, E. Minatel, E. Durofil, J. Polesel, M. Avanzo, T. Baresic, A. Bearz, A. Del Conte, G. Franchin, C. Gobitti, I.A. Rumeileh, M.G. Trovo // International journal of radiation oncology, biology, physics. – United States, $2014. - Vol. 88 - N_{\odot} 5 - P. 1114-1119.$

189. Tsoutsou, P.G. Radiation pneumonitis and fibrosis: mechanisms underlying its pathogenesis and implications for future research / P.G. Tsoutsou, M.I. Koukourakis // Int J Radiat Oncol Biol Phys. – 2006. – Vol. 66.

190. Umeki, S. Atelectatic lung escaping radiation pneumonitis. / S. Umeki, N.
Okimoto, R. Soejima // Chest. – United States, 1992. – Vol. 101 – № 3 – P. 879–880.

191. Vaskovsky, V.E. A universal reagent for phospholipid analysis / V.E. Vaskovsky, E.Y. Kostetsky, I.M. Vasendin // Journal of Chromatography A. – 1975. – Vol. $114 - N_{2} 1 - P. 129-141$.

192. Wang, L. Ionizing Radiation Induces HMGB1 Cytoplasmic Translocation and Extracellular Release. / L. Wang, L. He, G. Bao, X. He, S. Fan, H. Wang // Guo ji fang she yi xue he yi xue za zhi = International journal of radiation medicine and nuclear medicine. -2016. -Vol. $40 - N \ge 2 - P$. 91–99.

193. Wang, H. Screening and staging for non-small cell lung cancer by serum laser Raman spectroscopy. / H. Wang, S. Zhang, L. Wan, H. Sun, J. Tan, Q. Su // Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy. – England, 2018. – Vol. 201 – P. 34–38.

194. Wang, B. Accumulation of the delivered dose based on cone-beam CT and deformable image registration for non-small cell lung cancer treated with hypofractionated radiotherapy / B. Wang, D.Q. Wang, M.S. Lin, S.P. Lu, J. Zhang, L.

Chen, Q.W. Li, Z.K. Cheng, F.J. Liu, J.Y. Guo, H. Liu, B. Qiu // BMC Cancer. – 2020. – Vol. 20 – № 1 – P. 1112.

195. Wang, F. Interactions of particulate matter and pulmonary surfactant: Implications for human health. / F. Wang, J. Liu, H. Zeng // Advances in colloid and interface science. – 2020. – Vol. 284 – P. 102244.

196. Weibel, E. Architecture of the human lung / E. Weibel, D.M. Gomez // Science. – 1962. – Vol. 137 – P. 577–585.

197. Weibel, E.R. Lung morphometry: the link between structure and function. /
E.R. Weibel // Cell and tissue research. – Germany, 2017. – Vol. 367 – № 3 – P. 413–
426.

198. Weiling Zhao and Mike E.C. Robbins Inflammation and Chronic Oxidative Stress in Radiation-Induced Late Normal Tissue Injury: Therapeutic Implications / Weiling Zhao and Mike E.C. Robbins // Current Medicinal Chemistry. -2009. - T. 16 $- N_{2} 2 - C. 130-143.$

199. Winkelmann, A. The Clara cell: a "Third Reich eponym"? / A. Winkelmann,
T. Noack // European Respiratory Journal. – 2010. – Vol. 36 – № 4 – P. 722.

200. Wirsdörfer, F. The Role of Lymphocytes in Radiotherapy-Induced Adverse Late Effects in the Lung / F. Wirsdörfer, V. Jendrossek // Frontiers in Immunology. - 2016. - T. 7 - C. 591.

201. Wirsdörfer, F. Modeling DNA damage-induced pneumopathy in mice: insight from danger signaling cascades / F. Wirsdörfer, V. Jendrossek // Radiation oncology (London, England). – BioMed Central, 2017. – Vol. $12 - N_{2} 1 - P$. 142–142.

202. Wirsdörfer, F. Combining radiotherapy and immunotherapy in lung cancer: can we expect limitations due to altered normal tissue toxicity? / F. Wirsdörfer, S. Leve, V. Jendrossek // Int J Mol Sci. – 2019. – T. 20.

203. Witherden, I. Primary human alveolar type II epithelial cell chemokine release: effects of cigarette smoke and neutrophil elastase. / I. Witherden, E.J.V. Bon, P. Goldstraw, C. Ratcliffe, U. Pastorino, T. Tetley // American journal of respiratory cell and molecular biology. -2004. - Vol. 30 4 - P. 500–9.

204. Wittenborn, T.R. Comparison of gamma and x-ray irradiation for myeloablation and establishment of normal and autoimmune syngeneic bone marrow chimeras / T.R. Wittenborn, C. Fahlquist Hagert, A. Ferapontov, S. Fonager, L. Jensen, G. Winther, S.E. Degn // PLOS ONE. – Public Library of Science, 2021. – Vol. $16 - N^{\circ} 3 - P. 1-17$.

205. Wong, M.H. Differential Response of Primary Alveolar Type I and Type II Cells to LPS Stimulation / M.H. Wong, M.D. Johnson // PLOS ONE. – Public Library of Science, 2013. – Vol. 8 – N_{2} 1 – P. 1–13.

206. Wong, A.P. Conversion of human and mouse fibroblasts into lung-like epithelial cells. / A.P. Wong, S. Shojaie, Q. Liang, S. Xia, M. Di Paola, S. Ahmadi, C. Bilodeau, J. Garner, M. Post, P. Duchesneau, T.K. Waddell, C.E. Bear, A. Nagy, J. Rossant // Scientific reports. -2019. $-Vol. 9 - N_{\odot} 1 - P. 9027$.

207. Woodring, J. Types and mechanisms of pulmonary atelectasis / J. Woodring,
J. Reed // Journal of Thoracic Imajing. – 1996. – Vol. 11 – № 2 – P. 92–108.

208. Worasuwannarak, W. Comparison of postmortem CT and conventional autopsy in five trauma fatalities / W. Worasuwannarak, V. Peonim, S. Srisont, J. Udnoon, U. Chudoung, R. Kaewlai // Forensic Imaging. – Elsevier, 2020. – Vol. 22 – P. 200389.

209. Xu, W. Differential analysis of disease risk assessment using binary logistic regression with different analysis strategies. / W. Xu, Y. Zhao, S. Nian, L. Feng, X. Bai, X. Luo, F. Luo // The Journal of international medical research. -2018. -Vol. $46 - N_{2}9 - P$. 3656–3664.

210. Yazicioglu, T. Aging impairs alveolar epithelial type II cell function in acute lung injury / T. Yazicioglu, C. Mühlfeld, C. Autilio, C.-K. Huang, C. Bär, O. Dittrich-Breiholz, T. Thum, J. Pérez-Gil, A. Schmiedl, C. Brandenberger // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – American Physiological Society, $2020. - Vol. 319 - N_{2} 5 - P. L755-L769.$

211. Yin, Z. Oxidative stress levels and dynamic changes in mitochondrial gene expression in a radiation-induced lung injury model / Z. Yin, G. Yang, S. Deng, Q. Wang // Journal of Radiation Research. -2019. - Vol. $60 - N \ge 2 - P$. 204–214.

212. Yin, D. Analysis of the therapeutic effect and prognosis in 86 cases of rib fractures and atelectasis / D. Yin, J. Lu, J. Wang, B. Yan, Z. Zheng // Journal of orthopaedic surgery and research. – BioMed Central, 2021. – Vol. $16 - N_{2} 1 - P. 86-86$.

213. Zuo, W.-L. Ontogeny and Biology of Human Small Airway Epithelial Club Cells / W.-L. Zuo, S.A. Shenoy, S. Li, S.L. O'Beirne, Y. Strulovici-Barel, P.L. Leopold, G. Wang, M.R. Staudt, M.S. Walters, C. Mason, R.J. Kaner, J.G. Mezey, R.G. Crystal // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2018. – Vol. 198 – № 11 – P. 1375–1388.

Толщина межальвеолярных перегородок (µm) в контрольной и экспериментальной группах лабораторных животных (описательная статистика)

	Конт	гроль		7 сутк	и			14 cy	гки	50 сутки				
Меры описательной статистики	Субпл.	Интрап.	С ателе	ектазами	Без ател	ісктазов	С ателектазами		Без ателектазов		С Фиброателект азами		Без фиброателекта зов	
			Субпл.	Интрап.	Субпл	Интра п.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интра п.	Субп л.	Интра п.	Субпл	Интр ап.
Медиана	6,2	6,4	5,1	9,8	5,9	8,5	11,0	12,3	8,3	8,9	9,5	9,3	7,7	7,8
Минимум, (min)	4,4	4,4	3,4	7,1	4,3	5,7	6,1	8,8	5,2	5,5	6,3	6,0	4,7	5,7
1-й квартиль (Q1)	5,7	5,9	4,6	8,6	5,4	7,6	9,3	10,1	6,6	7,7	8,1	7,9	6,9	7,1
3-й квартиль (Q3)	6,9	7,2	5,4	10,6	6,2	9,6	13,1	13,6	9,3	9,4	10,9	10,6	8,1	8,3
Максимум (max)	15,3	9,4	9,6	12,9	7,9	13,0	16,0	16,7	11,7	15,0	13,3	12,6	9,2	9,6
Межкв. размах (d)	1,2	1,3	0,8	2,0	0,8	2,0	3,8	3,5	2,7	1,7	2,8	2,7	1,2	1,2
Размах (r)	10,9	5,0	6,2	5,8	3,6	7,3	9,9	7,9	6,5	9,5	7,0	6,6	4,5	3,9

Площадь альвеол (µm²) в контрольной и экспериментальной группах лабораторных животных

Меры описательной	Кон	троль		7 cy		14 c	утки		50 сутки					
статистики	Субпл.	Интрап.	С ателектазами		Без ателектазов		С ателектазами		Без ателектазов		С		Без	
											Фиброателектазами		фиброателектазов	
			Субпл	Интрап.	Субпл.	Интра	Субпл.	Интра	Субпл	Интра	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.
			•			п.		п.	•	п.				
Медиана	770	640	456	641	758	632	461	525	709	617	590	702	668	756
Минимум, (min)	531	232	117	447	397	231	108	205	371	225	215	384	466	528
1-й квартиль (Q1)	696	512	374	574	672	526	322	451	633	513	403	490	615	648
3-й квартиль (Q3)	926	720	632	804	908	728	802	633	850	708	796	832	808	902
Максимум (max)	1097	991	1030	923	1079	990	1073	834	1009	962	1612	1457	956	980
Межкв. размах (d)	230	208	258	230	236	203	480	182	217	195	392	342	193	254
Размах (r)	566	759	913	476	682	759	965	629	638	737	1397	1073	490	452

Процент сокращения гладких миоцитов в стенке бронхиол в контрольной и экспериментальной группах лабораторных животных

	Контроль			7 c		14 cy	утки		50 сутки					
Меры описательной статистики	Субпл.	Субпл. Интрап.		тазами	Без атело	ектазов	С ателек	тазами	Без ател	ектазов	С Фиброате	лектазами	Без фиброат	телектазов
			Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.
Медиана	17,7	18	20,8	21,3	20,5	21,4	25,6	27	21	22,1	26,8	26,2	19,2	19,4
Минимум, (min)	11,4	11,6	15,3	18,1	6,9	13,2	19,4	18,3	7	13,5	15,6	15,6	12,7	12,3
1-й квартиль (Q1)	15,8	15,5	18,6	19,8	17,5	17,8	24,3	24,4	17,8	18,3	23,1	24,6	18,2	16,7
3-й квартиль (Q3)	21,6	20,0	22,5	23,0	23,4	23,7	28,8	29,2	23,8	24,4	29,2	28,1	21,6	22,3
Максимум (max)	28,3	27,0	26,7	25,0	32,7	30,6	35,6	36,7	33,3	31,5	37	36,2	28,2	32,7
Межкв. размах (d)	5,8	4,5	3,9	3,2	5,9	5,9	4,5	4,8	6,0	6,1	6,1	3,5	3,4	5,6
Размах (r)	16,9	15,4	11,4	6,9	25,8	17,4	16,2	18,4	26,3	18	21,4	20,6	15,5	20,4

Площадь эпителиальной выстилки бронхиол на 1 µm по базальной мембране в контрольной и экспериментальной группах лабораторных животных

	Контроль			7 cy	тки			14 c	утки		50 сутки								
Меры описательной статистики	Субпл.	Субпл.	Субпл.	Субпл.	Субпл. Интр	Интрап.	С ателектазами		Без ател	Без ателектазов		С ателектазами		Без ателектазов		С Фиброателектазами		Без фиброателектазов	
			Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.					
Медиана	16,1	16,5	18,2	17,5	18,6	17,7	18,2	20,5	17,6	18,4	15,8	15,7	15,9	15,9					
Минимум, (min)	12,3	11,4	12,7	12,1	13	12,3	12,8	13,9	12,4	12,7	12	12	12,3	12					
1-й квартиль (Q1)	15,8	16,2	16,5	16,3	16,8	16,6	17,2	18,7	16,6	17	15,2	15,1	15,3	14,8					
3-й квартиль (Q3)	16,4	17	19,1	20,7	19,4	21	20,8	23,8	21,4	21,9	16,2	16,4	16,5	16,4					
Максимум (max)	19,2	18,4	22,1	24,1	22,5	24,4	25,5	27	24,6	24,8	18,8	18,3	19,2	18,3					
Межкв. размах (d)	0,6	0,8	2,6	4,4	2,6	4,4	3,6	5,1	4,8	4,9	1,0	1,3	1,2	1,6					
Размах (r)	6,9	7,0	9,4	12,0	9,5	12,1	12,7	13,1	12,2	12,1	6,8	6,3	6,9	6,3					

Высота эпителиальной выстилки бронхиол на 1 µm по базальной мембране в контрольной и экспериментальной группах лабораторных животных

Меры описательной	Кон	троль		7 cy		14 c	утки		50 сутки						
статистики	Субпл.	Интрап.	С ателектазами		Без ателектазов		С ателектазами		Без ателектазов		С		Без		
												Фиброателектазами		фиброателектазов	
			Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	Субпл.	Интрап.	
Медиана	0,025	0,025	0,026	0,026	0,026	0,026	0,027	0,0295	0,026	0,026	0,023	0,025	0,024	0,023	
Минимум, (min)	0,024	0,023	0,023	0,024	0,023	0,024	0,021	0,026	0,021	0,021	0,018	0,021	0,022	0,021	
1-й квартиль (Q1)	0,025	0,025	0,0256	0,026	0,0256	0,026	0,026	0,0288	0,025	0,0235	0,022	0,024	0,023	0,024	
3-й квартиль (Q3)	0,026	0,025	0,027	0,027	0,027	0,027	0,028	0,031	0,027	0,029	0,024	0,025	0,025	0,024	
Максимум (max)	0,026	0,026	0,03	0,028	0,03	0,028	0,029	0,033	0,029	0,031	0,037	0,032	0,025	0,025	
Межкв. размах (d)	0,001	0,000	0,0014	0,001	0,0014	0,001	0,002	0,0023	0,002	0,0055	0,00175	0,001	0,002	0,003	
Размах (r)	0,002	0,003	0,007	0,004	0,007	0,004	0,008	0,007	0,008	0,01	0,019	0,011	0,003	0,004	