МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Академик РАМН
профессор

Величковский Борис Тихонович

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ ПЫЛЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ

АКТОВАЯ РЕЧЬ

Москва - 1997

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

АКТОВАЯ РЕЧЬ

Академик РАМН
профессор

Величковский Борис Тихонович

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ ПЫЛЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ

Москва - 1997

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение 3

2. Эпидемиология 4

3. Патогенез 6

   3.1. Механизм генерации АФК, связанный с активизацией фагоцитов 7

   3.2. Механизм генерации АФК, обусловленный каталитическими свойствами поверхности пылинки 10

   3.3. Механизм генерации АФК, связанный с развитием в фагоците энергодефицитного состояния и внутриклеточной гипоксии 14

   3.4. Роль АФК в формировании клинико-морфологических особенностей пылевых заболеваний 16

4. Пути применения средств и методов патогенетической профилактики и терапии 22

Литература 32

1. ВВЕДЕНИЕ

Особый интерес, проявляемый к заболеваниям легких, вызываемым длительным вдыханием фиброгенной пыли, обусловлен как практическим, так и теоретическим значением этой проблемы. Речь идет о наиболее тяжелом и распространенном во всем мире виде профессиональной патологии, борьба с которой имеет большое социальное значение. Пылевые заболевания легких характеризуются необратимостью течения, приводят к потере трудоспособности и значительно сокращают срок жизни больных. Отсутствуют эффективные методы их лечения. Риску развития пылевых заболеваний подвергаются лица, находящиеся в наиболее трудоспособном возрасте и занятые в ведущих отраслях народного хозяйства.

Задача изыскания рациональных способов медико-биологической профилактики и терапии пылевых заболеваний легких может успешно решаться только на базе достоверных представлений об их патогенезе. Интенсивная разработка этой проблемы в последние годы вскрыла ее чрезвычайную сложность и тесную связь со многими аспектами общей патологии и молекулярной биологии. Это привлекает к изучению патогенеза пылевых заболеваний большой круг специалистов различного профиля и придает ему теоретический интерес, выходящий далеко за рамки медицины труда.

Приверженность автора к изучению аэрозолей фиброгенного действия обусловлена также и личными обстоятельствами. Я начал трудовую деятельность шахтером медного рудника на Урале в годы всенародной войны с фашизмом, когда горнорабочие вынуждены были трудиться практически без средств пылеподавления и индивидуальной защиты, ценой здоровья и жизни внося свой вклад в победу. Позднее мне представилась счастливая возможность выбора в Москве научного коллектива, в наибольшей мере подготовленного к изучению механизма воздействия фиброгенной пыли на организм. Предпочтение было отдано 2-му МОЛГМИ - РГМУ. Усилиями академика РАМН Ю.М.Лопухина, бывшего в те годы ректором, и его сподвижника - профессора Э.М.Когана в институте был основан подлинный дворец науки - многопрофильный прекрасно оснащенный научно-исследовательский межфакультетский лабораторный корпус, что, вкупе с медико-биологическим факультетом, создавало наилучшие

кадровые и материальные предпосылки для изучения пылевой патологии.

Жизнь показала, что выбор был оптимальным. Исследования, проведенные во 2-м МОЛГМИ - РГМУ, привели к пониманию основных молекулярных и клеточных механизмов воздействия фиброгенной пыли и позволили обосновать пути поиска средств патогенетической терапии и профилактики пылевой патологии. С душевной болью приходится наблюдать, как в результате экономического кризиса сейчас скудеет прекрасный научный комплекс.

2. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Фиброзные изменения легких, развивающиеся при длительном вдыхании пыли, в свое время послужили морфологическим обоснованием для выделения самостоятельной нозологической формы профессиональной патологии - *пневмокониоза*, то есть "запыленного легкого". Легочный фиброз, однако, является не единственным и даже не самым пагубным проявлением вредного влияния такой пыли на организм. Так, отечественным законодательством установлены два профессиональных пылевых заболевания органов дыхания. Наряду с различными разновидностями пылевого фиброза - пневмокониоза (*силикоз* - от воздействия пыли кремнезема, *асбестоз* - от пыли асбеста, *антракоз* - от пыли каменного угля и др.), выделена и неколлагеновая форма пылевой патологии - *хронический пылевой бронхит*. Кроме того, пыль асбеста и некоторых других минералов может быть причиной развития злокачественных новообразований плевры, бронхов, легких и желудка. Поэтому понятие "фиброгенная пыль", в определенной мере условно. Может быть, точнее подобные аэрозоли называть "нерастворимая пыль". Однако мы будем придерживаться устоявшейся терминологии.

Анализ распространенности и течения профессиональных заболеваний пылевой этиологии за рубежом и в Российской Федерации выявляет разнонаправленные тенденции. В странах ЕС и в США распространенность рентгенологически выявляемых фиброзно-пылевых изменений в легких у горнорабочих угольной промышленности снижается. Так, в США за 16 лет она уменьшилась с 13,8 до 4,0 процента, в том числе наиболее выраженных форм патологии - с 8,1 до 2,6 процента [37]. В угольной промышленности России регистрируются высокие показатели профессиональных заболеваний легких пылевой этиологии - антракоза и хронического пылевого бронхита. В 1995 году (17,9 процента) она в четыре раза, а в 1996 году - в 6,4 раза превышала показатели 1988 года. Рост профессиональных заболеваний легких у горнорабочих России обусловлен тремя основными причинами: уменьшением ассигнований

на борьбу с пылеобразованием и технику безопасности, снижением трудовой дисциплины горнорабочих, сказавшемся, в частности, на меньшем использовании респираторов, более адекватной диагностикой профессиональной пылевой патологии в последние годы.

Уровень профессиональной заболеваемости, обусловленной воздействием пыли, на предприятиях угольной промышленности остается значительно выше, чем в других отраслях производства. В 1995 году он составлял 48,0 на 10 тысяч работающих и превышал уровень профессиональной заболеваемости в черной и цветной металлургии, тяжелом и энергетическом машиностроении вместе взятых. Среди горнорабочих угольной промышленности с впервые установленным диагнозом пылевого заболевания свыше 90 процентов составляют шахтеры и только два процента - рабочие разрезов, что указывает на более благоприятные условия труда при открытом способе добычи угля. В угольных шахтах пылевая патология чаще выявляется и более тяжело протекает у горнорабочих, занятых разработкой антрацитовых углей, пластов крутого падения, при использовании узкозахватных комбайнов, а также при глубоком залегании угольных пластов, сопровождающемся сочетанным воздействием угольной пыли и нагревающего микроклимата. Установлено, что в этих условиях частота развития пневмокониоза возрастает, в среднем, на 10 процентов на каждый градус температуры выше 26°С [14].

Хронический пылевой бронхит у горнорабочих угольных шахт в настоящее время возникает на 3-5 лет раньше, имеет большую распространенность и протекает тяжелее, чем пневмокониоз. Пневмокониоз у шахтеров предприятий угольной промышленности развивается в основном по инерстициальному типу, вызывает умеренные нарушения функции внешнего дыхания и снижение трудоспособности, сравнительно редко осложняется туберкулезом [13]. Пагубные последствия хронического пылевого бронхита заключаются, главным образом, в развитии обструктивного синдрома (сужения бронхов), ведущего к возрастающему нарушению дыхательной функции легких.

Хронические обструктивные заболевания легких в последние годы вообще привлекают к себе все более пристальное внимание не только как угроза для лиц "пылевых" профессий. В США 10 миллионов человек (14 процентов мужчин и 9 процентов) страдают хроническими обструктивными заболеваниями легких. Большинство из них - 7,5 миллиона - болеет хроническим бронхитом. Тем не менее, учитывая ведущую роль обструкции бронхов в ущербе, наносимом этим распространенным заболеванием здоровью больного, в США и ряде западных стран в последние годы понятие "хроническое обструктивное заболевание легких" вытесняет диагнозы хронического

бронхита, эмфиземы и их комбинации. От хронических обструктивных заболеваний легких (ХОЗЛ) в США ежегодно умирают 60 тысяч человек. ХОЗЛ занимают пятое место среди ведущих причин смерти и второе место по величине компенсационных выплат в связи с утратой трудоспособности, уступая только коронарной болезни сердца. Смертность вследствие ХОЗЛ растет быстрее, чем от остальных ведущих причин, за исключением СПИДа. За десять лет (1968-1978 гг.) она увеличилась в США на 28 процентов, в то время как смертность от всех причин снизилась на 22 процента, а от сердечных заболеваний - на 23 процента [29].

В Российской Федерации, по данным Ю.В.Лешуковича [19], больные обструктивным бронхитом живут, в среднем, на 8 лет меньше по сравнению со средними показателями продолжительности жизни. Инвалидность при хроническом обструктивном бронхите, как правило, устанавливается поздно и обычно не ниже II группы. После заключения ВТЭК инвалиды живут всего около 6 лет. Для сравнения, при бронхиальной астме - в среднем, 22 года, т.е. в 3,5 раза дольше. Несмотря на быстрое "вымирание" инвалидов, страдающих хроническим обструктивным бронхитом, они составляют более половины (52,3 процента) лиц с инвалидностью от хронических неспецифических заболеваний легких.

Таким образом, изыскание эффективных патогенетических методов профилактики и лечения пневмокониоза и хронического обструктивного бронхита пылевой этиологии имеет как отраслевое, так и общемедицинское значение.

3. ПАТОГЕНЕЗ

К фиброгенной пыли относятся аэрозоли с практически нерастворимыми пылевыми частицами. Такую пыль отличает особый механизм патологического влияния на организм. Так, если в основе действия токсической пыли лежит растворение пылевых частиц и переход в тканевую среду соединений, вступающих в химическое взаимодействие с биосубстратом, то фиброгенная пыль оказывает свое пагубное влияние непосредственно в твердой фазе за счет процессов, происходящих на поверхности частиц. Повышенная растворимость для фиброгенной пыли является положительным свойством, ускоряющим выведение ее из организма и уменьшающим опасность развития заболевания. Высокая дисперсность пылинок, достигающих глубоких дыхательных путей, лишает их также какого-либо механического травмирующего воздействия. Поэтому перед исследователями, занимающимися изучением патогенеза пылевых заболеваний, долгие годы неразрешимым парадоксом вставал вопрос о том, каким образом мелкодисперсные, практически нерастворимые, нетоксичные и не

оказывающие механического травмирующего действия пылевые частицы реализуют свое неблагоприятное влияние на органы дыхания? Почему, например, кремнезем, относящийся к наиболее устойчивой химически инертной части земной коры, вызывает развитие одного из самых тяжелых профессиональных заболеваний легких?

Сегодня, по-видимому, можно считать, что этот парадокс получил свое объяснение. Установлено, что пылевые частицы оказывают пагубное воздействие на организм и, раньше всего, на фагоцитирующие их мононуклеарные и полиморфнонуклеарные лейкоциты благодаря способности стимулировать длительное избыточное образование в легких активных форм кислорода (АФК).

Многолетние систематические исследования лаборатории патогенеза и экспериментальной терапии пневмокониозов РГМУ показали, что в основе этого процесса лежат три механизма. Первый из них обусловлен активизацией фагоцитов пылевыми частицами за счет слабых химических взаимодействий при контакте поверхности пылинки с клеточной мембраной. Второй связан с трансформацией образовавшихся АФК на каталитических центрах пограничного слоя частиц. Третий связан с развитием в кониофаге энергодефицитного состояния и внутриклеточной гипоксии.

3.1. МЕХАНИЗМ ГЕНЕРАЦИИ АФК, СВЯЗАННЫЙ С АКТИВАЦИЕЙ ФАГОЦИТОВ

До недавнего времени путем проникновения в организм человека чужеродных веществ - ксенобиотиков - оставался желудочно-кишечный тракт. Для обезвреживания их в ходе эволюции сформировалась печень, обеспечивающая сохранение постоянства внутренней среды организма. Развитие техники, интенсификация производства, растущее загрязнение окружающей среды в корне изменили это положение. Сейчас равная, если не большая, нагрузка по обезвреживанию ксенобиотиков ложится на легкие. Но в ходе эволюции они приспособлены для борьбы с инфекцией дыхательных путей и, в меньшей степени, подготовлены для обезвреживания чужеродных веществ, в том числе пыли, которая стала одним из наиболее распространенных вредных факторов окружающей среды.

При контакте возбудителя инфекции, иммунного комплекса или пылевой частицы с мембраной фагоцита так интенсивно повышается уровень потребления кислорода, что это явление получило название "дыхательного взрыва". Практически весь дополнительно поглощенный кислород не используется на энергетические потребности клетки. Особая ферментная система фагоцитов, встроенная во внешнюю клеточную мембрану - НАДФ, Н-Оксидаза, изменяет электронную структуру молекулы кислорода, превращая его

в главное оружие бактерицидной защиты организма - кислородные радикалы.

Таким образом, ответ организма на действие пылевого аэрозоля стереотипен и заключается в мобилизации кислородозависимой бактерицидной системы фагоцитов.

Для изучения характера и природы свободных радикалов, генерируемых макрофагами в процессе фагоцитоза фиброгенной пыли, был использован метод хемилюминесценции (ХЛ). Он основан на регистрации сверхслабого свечения, возникающего в ходе химических реакций с участием свободных радикалов, и обладает уникальными возможностями: с одной стороны, позволяет осуществлять непрерывную регистрацию быстропротекающих радикальных процессов в сильно рассеивающих средах, например, содержащих пылевые частицы; с другой - дает возможность осуществлять анализ микроколичеств биологического материала.

Первые указания на существования сверх слабой биохемилюминесценции появились в работах А.Г.Гурвича, который обнаружил так называемое митогенетическое излучение в ультрафиолетовой области спектра, испускаемое растительными и животными клетками в момент деления. В 1954 году сверх слабое свечение проростков различных растений в видимой области спектра наблюдали итальянские исследователи Коли и Фачини. Затем в МГУ имени М.В.Ломоносова обнаружили индуцированную, а Б.Н.Тарусов, А.И.Журавлев и А.И.Поливода - спонтанную ХЛ в видимой области спектра биологических объектов не только растительного, но и животного происхождения. В 1967 году Robock K. впервые показал, что контакт кварцевой пыли с клеточной мембраной макрофагов сопровождается вспышкой хемилюминесценции. Для этих исследований он воспроизвел в ФРГ установку Б.Н.Тарусова для регистрации сверх слабого свечения, с которой познакомился в период стажировки в МГУ. В дальнейшем было показано, что ХЛ клеток может быть усилена люминесцирующими соединениями: люминолом, люцигенином, люциферином. В 1972 году Аллен и соавторы впервые наблюдали люминол зависимую ХЛ, возникающую в суспензии фагоцитирующих клеток. Авторы описали ХЛ полиморфноядерных лейкоцитов, стимулированных опсонизированными бактериями и опсонизированным зимозаном.

В наших исследованиях методом люминол зависимой хемилюминесценции (ХЛ) обнаружено два основных типа изменения метаболической активности фагоцитов при контакте с пылью различной степени цитотоксичности - способности твердых пылинок повреждать клетки независимо от токсического влияния продуктов их растворения (Рисунок 1).

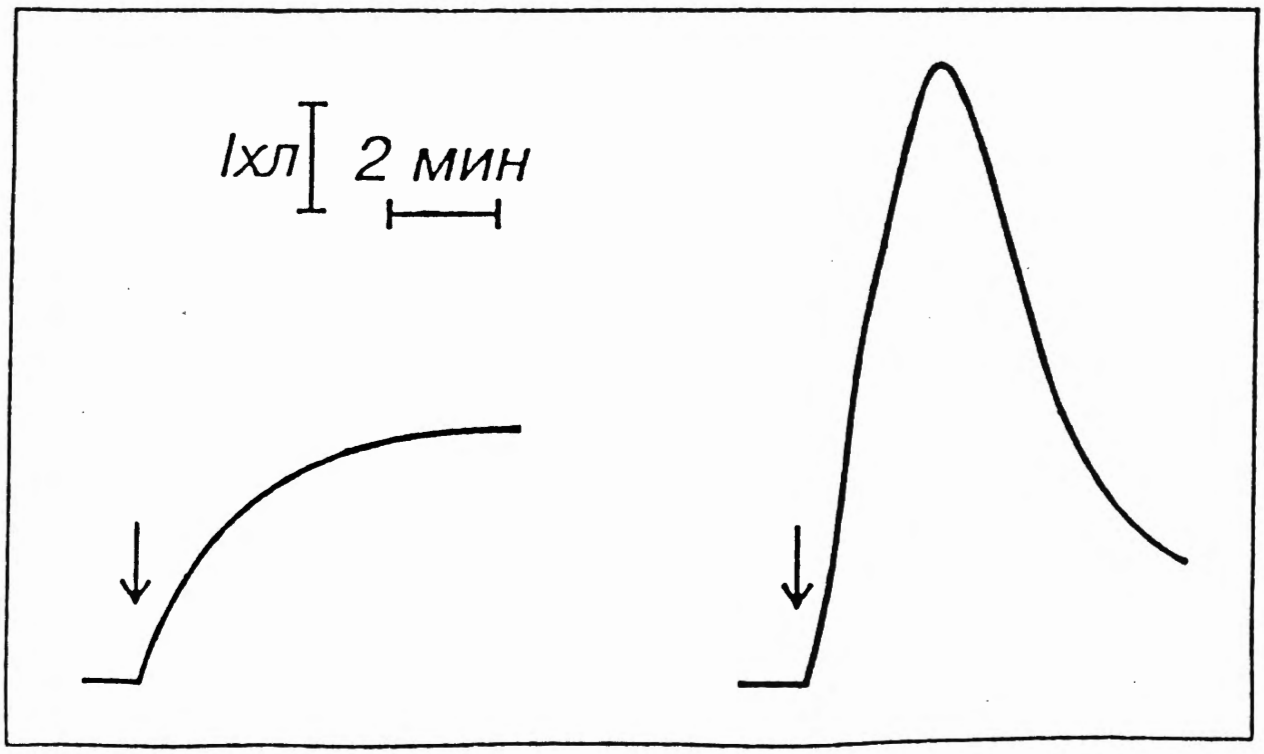

Рисунок 1. Основные типы ХЛ-ответа фагоцитов при контакте с пылью различной степени цитотоксичности ($I_{хл}$ - интенсивность хемилюминесценции)

Стрелкой обозначен момент введения 1 мг/мл пылевого образца в суспензию макрофагов концентрации $5x10^5$ в 1 мл. Среда: 110 мМ NaCl трис pH=7,4; 5 мМ глюкозы; $5x10^{-5}$ М люминола.

Первый тип ХЛ-ответа - медленный. При нем наблюдается постепенное развитие свечения с небольшой амплитудой и медленным достижением максимума за 6-8 минут. Интенсивность ХЛ после достижения максимума длительное время остается практически постоянной. Такой ХЛ-ответ можно, по-видимому, расценивать как наиболее физиологичный. Макрофаг при этом сохраняет жизнеспособность и адекватно отвечает на дополнительные стимулы.

Второй тип ХЛ-ответа - быстрый. Он характеризуется высокой амплитудой, коротким временем достижения максимума за 1-3 минуты и последующим быстрым снижением интенсивности свечения. Быстрая кинетика ХЛ отражает состояние чрезмерной активации макрофага, сопряженное с опасностью повреждения клетки.

Медленный ХЛ-ответ характерен для пыли, контактирующей с клеточной мембраной за счет неспецифических дисперсионных или гидрофобных взаимодействий. Наиболее типичными примерами аэрозолей такого рода являются углеродные пыли, оксид титана. Все подобные пыли обладают низкой цитотоксичностью.

Быстрая кинетика ХЛ-ответа присуща пылевым частицам, контакт которых с клеточной мембраной фагоцита осуществляется за счет относительно специфических электростатических взаимодействий

или водородных связей. Типичными видами пылей такого рода являются аэрозоли кварца, асбеста, цеолитов. Все они отличаются высокой цитотоксичностью [3, 5].

Таким образом, фиброгенные пыли способны в разной степени стимулировать фагоцитирующие клетки и вызывать генерацию АФК. Интенсивность этого процесса зависит от химического состава, кристаллического строения и свойств поверхности пылевых частиц. Для количественной характеристики степени цитотоксичности производственной пыли может быть рассчитан индекс интенсивности ХЛ-ответа и коэффициент активации лейкоцитов. Однако следует помнить, что при увеличении дозы высокоцитотоксичной пыли ХЛ-ответ возрастает до определенного предела, а затем снижается. Создается впечатление, что нарушается зависимость "доза-эффект". На самом деле в кювете происходит разрушение части кониофагов - клеток, поглотивших пылевые частицы. Когда суммарный эффект обусловлен как степенью активации лейкоцитов, так и долей поврежденных клеток, предпочтительнее использовать прием определения "критической дозы", вызывающей максимальный ответ, то есть исследовать не одну "стандартную", а несколько возрастающих концентраций пыли. Вместе с тем, наш опыт позволяет считать необходимым и достаточным диагностическим признаком степени цитотоксичности фиброгенной пыли тип вызываемого ею ХЛ-ответа активированных макрофагов. Но прогнозировать характер биологической опасности аэрозоля только по степени цитотоксичности нельзя, так как она не всегда соответствует уровню фиброгенности пыли и, главное, фиброгенностью не исчерпываются эффекты и клинические проявления воздействия на организм твердых пылевых частиц.

3.2. МЕХАНИЗМ ГЕНЕРАЦИИ АФК, ОБУСЛОВЛЕННЫЙ КАТАЛИТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ ПОВЕРХНОСТИ ПЫЛИНКИ

Состав накапливающихся вокруг пылевых частиц форм активного кислорода определяет, главным образом, второй механизм их генерации. Он заключается в развитии на поверхности частиц каталитических реакций трансформации активного кислорода. Каталитическая активность фиброгенной пыли оценивалась двумя путями. Во-первых, исследовалась способность пыли разлагать наиболее устойчивую форму активного кислорода - пероксид водорода H_2O_2. Во-вторых, определяли количество каждой АФК в суспензии фагоцитирующих лейкоцитов, активируемых пылью: супероксидный анион-радикал O_2^- по ингибируемому супероксиддисмутазой (СОД) восстановлению цитохрома С; пероксида водорода - по опосредованному пероксидазой хрена окислению фенолового

красного: гидроксильный радикал $HO^{\cdot}$ - по разложению 2-дезокси-Д-рибозы (ДОР).

Особый интерес представляет сравнение каталитической способности кварца и асбеста (Таблица). Генерация $O_2^{\cdot-}$ за 60 минут активации перитонеальных макрофагов асбестом - крокидолитом (ICC, Канада) и кварцем (Люберцы, Россия) в 2,5 - 3 раза превышает контроль.

Таблица

Образование активных форм кислорода
и продуктов перекисного окисления липидов
в суспензии фагоцитов под влиянием фиброгенной пыли
(% от контроля - клеток без пыли)

Активирующая пыль	$O_2^{\cdot-}$	H_2O_2	$HO^{\cdot}$	МДА
Кварц	300	203	118	153
Крокидолит-асбест	250	96	163	300

Содержание пероксида водорода при 15-минутной инкубации нейтрофилов человека с асбестом практически не отличается от контроля. Кварц, напротив, вызывает накопление H_2O_2 в количествах, превышающих контроль в среднем в два раза. Надо полагать, что при активации клеток асбестом не удается зарегистрировать пероксид водорода в связи с тем, что каталитические центры на поверхности волокна трансформируют его в более агрессивный гидроксильный радикал.

Это положение подтверждается при исследовании генерации гидроксильного радикала. В присутствии макрофагов и пылевых частиц кварца содержание $HO^{\cdot}$, определяемое по разрушению ДОР, превышает контроль только на 18 процентов. Инкубация клеток с волокнами асбеста увеличивает деградацию ДОР на 63 процента, то есть в 3,5 раза больше, чем при контакте с кварцем.

К тому же половина гидроксильных радикалов, образующихся под влиянием крокидолита, не взаимодействует с этанолом, добавленным в среду, то есть является не свободными, а так называемыми "сайтспецифическими", или "криптогидроксилами", возникающими непосредственно в точке контакта с поверхностью частицы.

Подобный тип гидроксильных радикалов более чем в два раза активнее индуцирует усиление перекисного окисления липидов (ПОЛ). Действительно, пероксидация липидов перитонеальных макрофагов, определяемая по количеству малонового диальдегида (МДА), под влиянием кварца увеличивается только на 53 процента, а при контакте с волокнами асбеста - в три раза [4, 27, 33].

Таким образом, действие пыли кварца на организм опосредованно, главным образом, пероксидом водорода, а влияние

волокон асбеста связано прежде всего с образованием гидроксильных и особенно "криптогидроксильных" радикалов. Что касается угольной пыли, поверхность которой не имеет каталитических центров, то ее воздействие обусловлено целиком возникающими при активации лейкоцитов супероксидными анион-радикалами $O_2^{\cdot}$.

Роль компонентов асбестового волокна в генерации АФК различна (Рисунок 2).

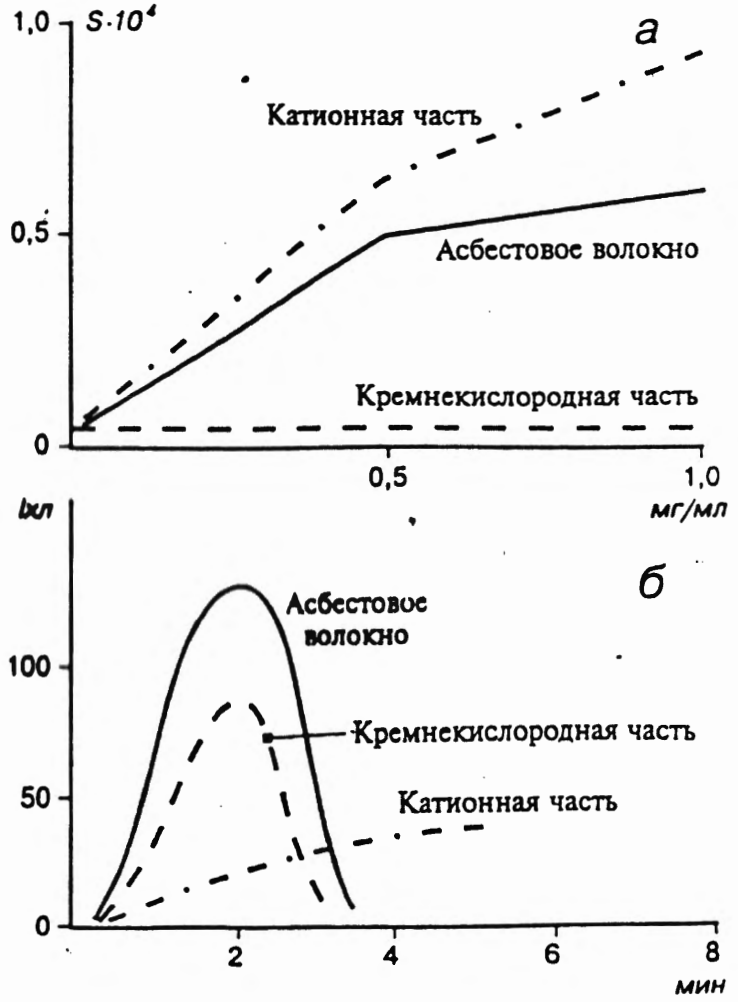

Рисунок 2. Генерация радикалов кислорода асбестовым волокном и его компонентами.

а - в бесклеточной среде. По оси абсцисс - концентрация (мг/мл); по оси ординат - светосумма вспышек ХЛ за 3 мин. Среда: 154 мМ KH_2PO_4 pH=7,4: x10^{-7} М пероксидазы хрена; x10^{-5} М NADPH;
б - в суспензии макрофагов. По оси абсцисс - время (мин), по оси ординат - интенсивность ХЛ. Среда та же.

На верхней половине рисунка 2 показано, что каталитическая способность асбеста целиком обусловлена перешедшей в раствор катионной составляющей волокна. Однако при контакте с макрофагами (нижняя половина рисунка) выясняется, что катионная часть волокна не способна вызывать активации клеток. Таким образом, кремнекислородный скелет минерала активирует фагоциты и генерацию ими АФК в гидроксильные и "криптогидроксильные" радикалы [28]. Потому нативное волокно в наибольшей степени опасно для организма.

Каталитические свойства присущи ионам металлов переменной валентности, в частности, железа. Связь каталитической способности с присутствием ионов железа. Связь каталитической способности с присутствием ионов железа в структуре поверхности волокна установлена давно. На нее указывает тот факт, что она подавляется хелатором железа - дезоксиферритином [30].

Поверхность кремнезема содержит минимальное количество примеси ионов железа. В асбестовом волокне, напротив, ионы железа представляют собой обязательный структурный компонент. Указанное различие и определяет неодинаковую скорость каталитического превращения H_2O_2 данными видами пыли и накопление пероксида водорода на кремнеземе. Следует подчеркнуть, что, хотя процесс трансформации АФК на поверхности пылевых частиц определенное время идет и в водной среде, каталитическим он становится только в присутствии лейкоцитов, ферменты которых генерируют восстановительные эквиваленты, необходимые для перевода ионов переходных металлов в низшую степень валентности.

Однако каталитические процессы на поверхности пылевых частиц не всегда ведут к повышению их биологической активности. Например, кристаллическая окись алюминия разлагает пероксид водорода до воды подобно ферменту каталазе без образования свободных радикалов кислорода [4, 5]. В этом случае содержание АФК вокруг частицы уменьшается и одновременно снижается ее цитотоксичность. Не случайно окись алюминия используется в производстве вакцин. Популярная в свое время алюмопрофилактика силикоза также, по-видимому, обусловлена способностью пленки окиси алюминия разлагать генерируемые кварцем АФК без образования свободных радикалов [2].

Каталитическая способность пылинок кристаллической окиси алюминия впервые обнаружена в нашей лаборатории. Она обусловлена, по-видимому, апротонными кислотоподобными центрами поверхности (льюисовскими центрами).

При обосновании предельно допустимой концентрации (ПДК) фиброгенной пыли в воздухе до сих пор принимались во внимание две характеристики вещества: основной химический состав и молекулярное строение. Как показали наши исследования эти параметры определяют

тип активации фагоцитов пылевыми частицами. Но для гигиенической регламентации фиброгенной пыли подобной характеристики недостаточно. Необходимо также устанавливать наличие каталитически активных примесей на поверхности пылинок, вызывающих трансформацию АФК и тем самым определяющих их состав, накапливающийся в легочной ткани.

3.3. МЕХАНИЗМ ГЕНЕРАЦИИ АФК, СВЯЗАННЫЙ С РАЗВИТИЕМ В ФАГОЦИТЕ ЭНЕРГОДЕФИЦИТНОГО СОСТОЯНИЯ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ГИПОКСИИ

Третий молекулярный механизм образования АФК имеет место при фагоцитозе как высоко-, так и низкоцитотоксической пыли. Но причина и период включения указанного механизма в том и другом случае не одинаковы.

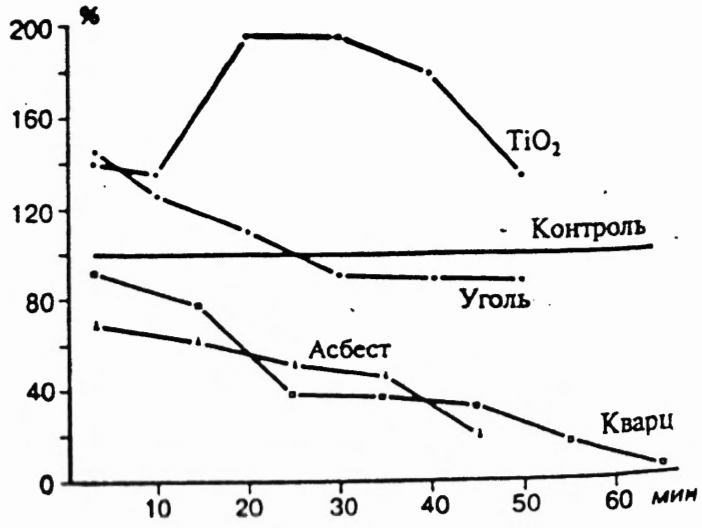

Рисунок 3. Изменение количества АТФ в суспензии макрофагов концентрации 0,75х107 клеток/мл при инкубации с различными образцами фиброгенной пыли концентрации 1 мг/мл.
По оси абсцис - время (мин); по оси ординат - концентрация АТФ (% от контроля - количества АТФ в клетке без пыли, принятого за 100%).

При максимальной активации фагоцитов высоко цитотоксическими видами пыли большая часть поглощенного кислорода и энергетических ресурсов фагоцита используется на два параллельно идущих процесса - генерацию бактерицидных АФК и работу ионных насосов, восстанавливающих внутриклеточное ионное и осмотическое равновесие. По указанной причине происходит значительное и быстрое снижение уровня энергетической "валюты" клетки - аденозинтрифосфата (АТФ). В клетке развивается энергодефицитное состояние (Рисунок 3). При инкубации с асбестом и кварцем содержание АТФ уменьшается до 10-20 процентов, в то время,

как частицы угля и диоксида титана за тот же период или не изменяют, или даже повышают уровень АТФ в клетках [16]. Последнее подтверждает различие механизмов повреждения лейкоцитов высоко- и низкофиброгенной пылью. Переключение в активно фагоцитирующей клетке энергетического метаболизма с аэробного на анаэробный тип лишь временно задерживает развитие энергодефицитного состояния и внутриклеточной гипоксии, при которой возникают серьезные повреждения митохондрий, ведущие к разобщению окислительного фосфорилирования и нарушению их структуры.

Именно поэтому одним из первых морфологических проявлений повреждения макрофагов, фагоцитирующих высокофиброгенную пыль, является набухание митохондрий, потеря ими крист и, в конечном итоге, образование на их месте электронно прозрачных полостей. Поврежденные митохондрии сами становятся источником генерации большого количества супероксида, который в норме является лишь побочным минорным продуктом восстановления кислорода в дыхательной цепи. Так в клетке формируется новый очаг образования АФК. Еще один очаг образования кислородных радикалов возникает в цитоплазме клетки при взаимодействии фермента ксантиноксидазы с продуктами глубокого распада АТФ - ксантином и гипоксантином [23].

Таким образом, фагоцит все более активно продуцирует средства своей бактерицидной защиты - кислородные радикалы. Но если для микробного, вирусного или грибкового возбудителя они губительны, то пылевая частица к ним не чувствительна. В этом случае эволюционно выработанный стандартный ответ альвеолярных макрофагов и нейтрофилов не срабатывает. Напротив, при большой пылевой нагрузке ситуация становится опасной как для самой клетки, так и для окружающих тканей. Как правило, только после включения указанного третьего механизма внутриклеточной генерации АФК происходит разрушение кониофага.

При фагоцитозе низкоцитотоксичной пыли механизм внутриклеточной генерации АФК и гибели кониофага иной [18]. Клетки, поглотившие большое количество такого рода частиц, не только длительное время остаются жизнеспособными и подвижными, но даже увеличиваются в объеме, в них возрастает число и размеры митохондрий, лизосом и жировых включений. Происходит типичная "рабочая" гипертрофия кониофага на внутриклеточном уровне. Например, в модельных опытах с внутрибрюшинным введением белым крысам 5 мг/мл взвеси угольной пыли через сутки средний диаметр перитонеальных макрофагов увеличивается на 32 процента по сравнению с контролем. Гипертрофированные кониофаги, естественно, нуждаются в потреблении повышенного количества кислорода. Однако с увеличением размеров клетки отношение площади ее

поверхности к объему прогрессивно снижается, что создает все большие затруднения для диффузии кислорода в цитоплазме. В результате со временем поступление кислорода к митохондриям становится недостаточным, гипоксия нарушает режим их работы и начинается усиленное образование супероксидного анион-радикала. Включается сразу третий механизм внутриклеточной генерации АФК.

Полученные данные позволяют сделать важное, с нашей точки зрения, заключение: безвредной пыли нет. Гибель кониофага может произойти под влиянием любых практически нерастворимых пылевых частиц. Для этого требуются только различные уровни запыленности и различная длительность пребывания в запыленной атмосфере.

3.4. РОЛЬ АФК В ФОРМИРОВАНИИ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПЫЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Образующиеся под влиянием фиброгенной пыли АФК не только вызывают гибель кониофагов, но и обуславливают развитие морфологических, патофизиологических и иммунологических изменений, лежащих в основе клинических проявлений пылевых заболеваний, обусловленных различными производственными аэрозолями. В этом отношении наибольший интерес представляет анализ особенностей воздействия трех наиболее распространенных и опасных видов фиброгенной пыли: кремнезема, асбеста и каменного угля.

КРЕМНЕЗЕМ

Специфика биологической активности аэрозолей кремнезема проявляется уже на первичном этапе взаимодействия с фагоцитами. Обнаружено отличие ферментных систем, участвующих в формировании ХЛ-ответа макрофагов на пыль кремнезема. Так, если при контакте с любой фиброгенной пылью к развитию ХЛ клеток причастны ферменты глюкозомонофосфатного шунта и протеинкиназы С, то ферменты, окисляющие арахидоновую кислоту (липоксигеназа и циклоксигеназа), а также, по-видимому, фосфолипаза-A_2, повышают свою активность только при взаимодействии макрофагов с кварцевой пылью. При фагоцитозе волокон асбеста и пыли каменного угля изменения активности указанной группы ферментов обнаружить не удалось [17]. С этим обстоятельством в определенной мере может быть связано такое существенное отличие в характере биологического действия кварца, как хорошо известное адъювантное иммуностимулирующее влияние его пылевых частиц.

Причина избирательной активности ферментов окисления арахидоновой кислоты, вероятно, заложена в характере

взаимодействия кварцевой пыли с мембраной макрофагов. Только на поверхности кристаллического кремнезема имеются достаточно многочисленные силанольные группы, способные контактировать с клеточной мембраной за счет водородных связей. Для асбестовых волокон характерно ионное, а для угольной пыли - гидрофобное взаимодействие. В пользу значения водородных связей на поверхности кремнезема говорит тот факт, что адъювантный эффект более всего выражен под влиянием свеже размолотой пыли кварца, характеризующейся практически в два раза большей плотностью силанольных групп на единице поверхности, чем на аморфных разновидностях кремнезема, а также "старой", дегидратированной или оплавленной кварцевой пыли.

Частицами кварца можно стимулировать выработку в культуре макрофагов интерлейкина-1 - локального медиатора, способного как стимулировать лимфоциты, так и выполнять ряд неиммунологических функций. В этой связи представляет интерес установленный в лаборатории факт, что внесение в такую культуру веществ, ингибирующих АФК, например, СОД и каталазы, практически полностью подавляет выработку интерлейкина-1.

Но еще важнее, на наш взгляд, что АФК могут играть роль и в формировании специфического ответа иммунной системы: появление аутоантигенов в процессе развития узелкового силикоза. Этот феномен установлен многочисленными исследованиями в различных странах, но до сих пор не получил удовлетворительного объяснения. Между тем накапливающийся при активации макрофагов кварцевой пылью пероксид водорода относительно устойчив, может диффундировать в тканях на значительное расстояние и, главное, способен к окислительной модификации эндогенных макромолекул [1]. Мы полагаем, что именно по этой причине в легких под влиянием кварца появляются тканевые структуры со свойствами аутоантигенов. Пероксидный механизм аутоиммунных изменений в высокой степени вероятен для силикоза со свойственной ему гиперчувствительностью замедленного типа, формированием в легких характерных гранулем (силикотических узелков) и часто возникающими сопутствующими коллагенозами.

Представление о пероксиде водорода как о причине окислительной модификации эндогенных макромолекул в аутоантигены пока еще гипотеза. Высокая привлекательность ее, однако, заключается в том, что подобный механизм образования аутоантигенов может быть ведущим при формировании многих аутоиммунных процессов.

АСБЕСТ

По квалификации Международного агентства по изучению рака асбест входит в группу достоверно доказанных канцерогенов. Он также усиливает канцерогенное действие 3,4-бензпирена и других ароматических углеводородов. Исследования, проведенные нашей лабораторией совместно с Институтом фармакологии РАМН, показали, что частицы хризотил-асбеста, цеолита, кремнезема и ряда других материалов, в частности, латекса, индуцируют хромосомные аберрации в культуре цельной крови человека. СОД предупреждает эффект хризотил-асбеста, кварца и латекса, каталаза - цеолитов. Это позволяет заключить, что мутагенный эффект пылевых частиц опосредован через образование АФК. В эксперименте на линейных мышах (A57BЛ/6) установлено, что внутрибрюшинное введение хризотил-асбеста приводит к зависимому от времени экспозиции увеличению уровня клеток с хромосомными аберрациями в перитонеальном экссудате и клетках мозга мышей. Таким образом, в организме хризотил-асбест оказывает не только местное, но и дистанционное генерализованное мутагенное воздействие. По-видимому, генерализованные мутагенные изменения в организме реализуются через индукцию пылевыми частицами АФК и ПОЛ клеточных мембран, в результате чего образуются и накапливаются эндогенные мутагены - малоновый диальдегид и гидроперекиси липидов.

Эпидемиологические исследования показывают, что мутагенное и канцерогенное влияние волокон асбеста реализуется, главным образом, посредством местных эффектов - развитие мезотелиомы плевры, рака бронхов и легких, а также рака желудка - второго (после легких) органа-мишени, куда волокна попадают вместе с заглатываемой мокротой. Молекулярный механизм местного воздействия асбеста обусловлен генерацией гидроксильных и, особенно криптогидроксильных радикалов. На основе реакции взаимодействия гидроксила с рибозой, входящей как в состав ДОР, так и в состав ДНК, предложен метод определения генотоксичности фиброгенной пыли [26].

Через свободно—радикальный механизм реализуется повреждающее воздействие волокон асбеста на микросомы клеток - основную систему детоксикации и биотрансформации ксенобиотиков в организме. При этом в микросомах увеличивается образование радикальных продуктов метаболизма 3,4-бензпирена, что, является одной из главных причин промотирующего эффекта асбеста по отношению к ароматическим углеводородам [26], наряду с абсорбцией их на поверхности волокна.

В культуре цельной крови человека препараты, обладающие способностью инактивировать АФК, отчетливо снижают или полностью устраняют мутагенное действие фиброгенной пыли. Однако

возможностью предупреждать мутагенный эффект хризотил-асбеста "ин витро" из всех испытанных нами препаратов обладает только бемитил, ускоряющий регенерацию генома. Это было показано методом учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга линейных мышей.

На основании исследований механизма корпускулярного мутагенеза в Институте фармакологии РАМН академиком РАМН С.Б.Середениным и профессором А.Д.Дурневым развито новое научное направление - фармакологическая защита генома [25].

Биологическую активность асбеста традиционно связывают с формой, размерами, прочностью и адсорбционной способностью волокна. Волокнистая форма затрудняет выведение пыли из легких и облегчает непосредственный контакт поверхности частицы со структурами ядра клетки. Размеры, обуславливающие максимальный повреждающий эффект асбестового волокна (длина более 10 мкм, толщина менее 0,2 мкм), способствуют развитию многоточечного кооперативного взаимодействия его поверхности с клеточной мембраной. Как показали экспериментальные исследования в модельных системах со специально синтезированными в Институте химии МГУ неприродными линейными полиэлектролитами: выраженная стимуляция фагоцитов происходит только в результате многоточечного кооперативного взаимодействия полимерной молекулы с мембраной клетки. "Рецепторные" участки дискретно расположены на поверхности мембраны и имеют линейные размеры порядка 0,009 мкм. Количество их на клетке достигает 9×10^5 [26].

КАМЕННЫЙ УГОЛЬ

Чем менее выражена степень метаморфизма разрабатываемых углей и больше содержание в них летучих веществ, следовательно, в наибольшей мере проявляется чисто гидрофобный тип контакта частицы с мембраной клетки [11], тем более характерна для нее медленная физиологическая стимуляция фагоцитов.

Угольная пыль удаляется из легких главным образом внутри кониофагов по мукоцилиарному эскалатору респираторного тракта. Такой путь выведения приводит к развитию преимущественно хронического пылевого бронхита - бронхита выведения, вызываемого гипертрофированными кониофагами, продуцирующими агрессивные АФК. В легочной ткани фиброзный процесс - антракоз возникает тем чаще, чем выше запыленность вдыхаемого воздуха и, следовательно меньше время жизнедеятельности чрезмерно гипертрофированного кониофага. Таким образом, при особенно высоком уровне пылеобразования, наблюдавшемся в первые годы внедрения угольных комбайнов, преобладало развитие антракоза, при более успешном пылеподавлении, характерном для настоящего времени, на первое место выходит хронический пылевой бронхит.

АФК, образующиеся под влиянием угольной пыли в гипертрофированном кониофаге, инактивируют ферменты протеазы и, в еще большей степени, ингибиторы протеаз, в частности, альфа-1-антрипсин (тип ZZ), вызывая его относительную недостаточность. Так, активность окислительного ингибитора по отношению к нейтрофильной эластазе может снижаться почти в 2 тысячи раз [21, 22]. Это приводит к усилению деструкции коллагенового и эластического каркаса легких. Повышенное выделение оксипролина с мочой в период префиброза многократно описано в клинике и эксперименте. Оксипролин обнаруживается не только в моче, но и в бронхоальвеолярных смывах (БАС). И то, и другое служит прямым доказательством усиления процессов деструкции легочной ткани, предшествующей развитию фиброза.

Тонкие эластические волокна межальвеолярных перегородок разрушаются быстрее, чем их пучки в стенках бронхов. В результате происходит сужение просвета респираторных путей, особенно резко выраженное в бронхиолах, лишенных хрящевого остова. Возникает обструктивный синдром, в основе которого лежит не спазм бронхиальной мускулатуры, а нарушение равновесия эластического натяжения между легочной паренхимой и бронхами (Рисунок 4).

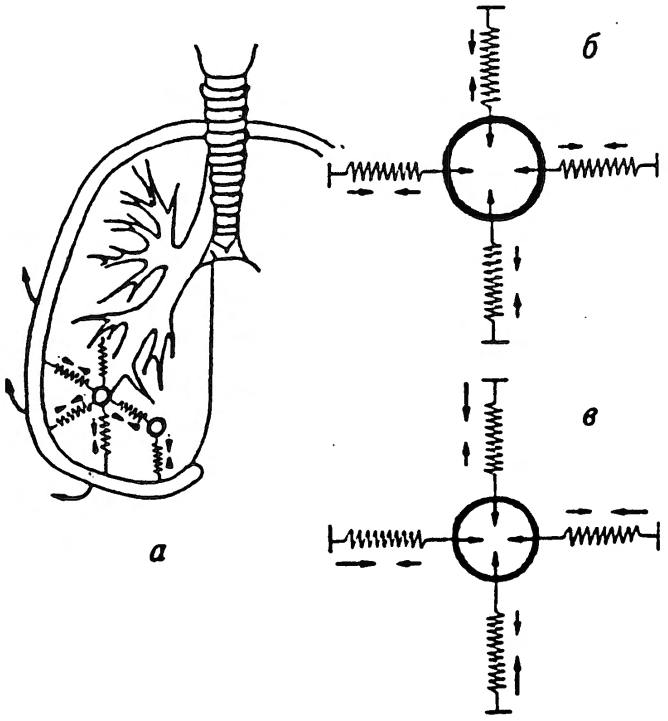

Рисунок 4. Возникновение обструкции дыхательных путей при нарушении эластического каркаса легких (по В.Ульмеру)
а - схема эластического натяжения легких, б - просвет бронхиолы в норме, в - сужение просвета бронхиолы вследствие нарушения эластического каркаса легких при пылевой перибронхиальной эмфиземе.

При этом, в отличие от бронхиальной астмы, нарушение проходимости респираторных путей носит не приступообразный характер, а нарастает постепенно, исподволь и остается постоянным. При спокойном дыхании и, естественно, небольших объемах вдоха и выдоха сопротивление дыхательных путей может оставаться нормальным. Мышечный тонус бронхов не принимает активного участия в развитии обструктивного синдрома. При нагрузках, вследствие невозможности заметно увеличить объемы вдоха и выдоха, быстро развивается дыхательная недостаточность. Значительные физические напряжения могут усугублять состояние больных за счет развития бронхоспазма - "астма физического усилия".

Коварство течения хронического пылевого бронхита с выраженным обструктивным синдромом заключается в том, что незаметно для самого больного и наблюдающего его врача течение заболевания выходит из-под контроля и очередное обострение переходит в необратимое прогрессирование. О причине этого явления до последнего времени высказывались лишь предположения.

Несколько лет назад в нашей лаборатории впервые было установлено угнетение кислородзависимой бактерицидной системы лейкоцитов у таких больных. Коэффициент активации лейкоцитов крови, представляющий собой отношение максимальной интенсивности ХЛ активированных клеток к уровню их спонтанного свечения, при хроническом "пылевом" бронхите у 90% больных оказался менее 2.5 ($К_{ХЛ}<2,5$), напротив, при силикозе или антракозе у 80-75% больных соответственно он был более 3,5 ($К_{ХЛ}>3,5$) [9, 10].

Позднее супрессия свободно радикального окисления фагоцитирующих лейкоцитов респираторного тракта у больных хроническим обструктивным бронхитом не пылевой этиологии была показана другими авторами. При этом оказалось, что подавление свободно радикального окисления лейкоцитов бронхоальвеолярного смыва тем выраженнее, чем распространеннее атрофические изменения слизистой бронхов [2].

В бронхоальвеолярных смывах таких больных содержится неизвестный ингибирующий фактор, подавляющий способность генерировать АФК у фагоцитирующих лейкоцитов, взятых от здоровых лиц [2].

Угнетение кислородзависимой бактерицидной системы альвеолярных макрофагов и лейкоцитов крови играет, по-видимому, решающую роль в развитии необратимой стадии хронического обструктивного бронхита. В легких концентрация аскорбиновой кислоты в 16 раз выше, чем в крови [34]. Она является главным внеклеточным водорастворимым антиоксидантом нашего организма, содержащимся в бронхиальной слизи и защищающим поверхность воздухопроводящих путей от разрушительного влияния АФК,

выделяемых гипертрофированными кониофагами, удаляемыми мукоцилиарным эскалатором респираторного тракта. Когда развиваются атрофические изменения слизистой бронхов, система антиоксидантной защиты (АОЗ) истощается. В ответ в организме происходят изменения функционального состояния лейкоцитов - активная супрессия их кислородзависимой бактерицидной системы. Цель этих изменений заключается в предотвращении дальнейшего разрушения легочной паренхимы и формирования шокового легкого в процессе элиминации осевших в органах дыхания пылевых частиц и микробов. Это, однако, ослабляет защиту воздухопроводящих путей от проникновения респираторной инфекции, так как АФК составляют основное бактерицидное и цитотоксическое "оружие" клетки. Секретируемые при фагоцитозе лизосомальные гидролазы обладают весьма слабой бактерицидностью и осуществляют в основном деградацию нежизнеспособных объектов. Таким образом замыкается порочный круг, лежащий в основе развития хронического обструктивного бронхита, - открываются "входные ворота" респираторной инфекции и процесс становится необратимым. Именно в этот период у больного развивается хроническая пневмония (хроническая обструктивная бронхопневмония) - диагноз, который в прежние времена мы ставили необоснованно широко и от которого в настоящее время также неоправданно отказались совсем.

4. ПУТИ ИЗЫСКАНИЯ СРЕДСТВ И МЕТОДОВ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ

Основой профилактики заболеваний легких пылевой этиологии являются инженерно-технические мероприятия, направленные на улучшение условий труда, снижение запыленности воздуха. Важное значение принадлежит средствам индивидуальной защиты органов дыхания.

Медицинским мероприятиям до недавнего времени не придавалось особого значения. Это было обусловлено отсутствием четких представлений о механизме действия фиброгенной пыли на организм. В эксперименте и клинике были изучены многие соединения с различной направленностью действия. Таким эмпирическим путем найдены три средства, показавшие отчетливый положительный результат и потому привлекшие наибольшее внимание:ингаляция алюминиевой пудры ("алюмопрофилактика силикоза"), профилактическое и лечебное применение полимерного препарата поли-2-винил-*N*-оксид ("поливиноксид"), лечебное использование кортикостероидных гормонов (гормональная терапия "острого" силикоза"). Все эти методы оказались эффективными в эксперименте, но использование их в клинике стало невозможным или значительно

ограниченным из-за выраженного побочного действия. Правда, осуществляемый в настоящее время в Китае опыт применения поливиноксида показывает, что опасность длительного введения этого препарата в СССР была, по-видимому, преувеличена. Как бы то ни было, общепринятым осталось мнение" "в клинике отсутствуют эффективные патогенетические средства, воздействующие на кониотический фиброз и стабилизирующие прогрессирование заболевания" (Руководство по профессиональным заболеваниям. Под ред. Н.Ф.Измерова. М., Медицина. - 1996) В учебнике для медицинских институтов В.Г.Артомоновой и Н.Н.Шаталова "Профессиональные болезни" (М., Медицина. - 1996) медицинские рекомендации сводятся к тому, что "основное внимание следует уделять лечебно-профилактическим мероприятиям, которые могут способствовать повышению резистентности организма".

Однако на основании проведенных в нашей лаборатории исследований, позволивших установить основные молекулярные и клеточные механизмы пагубного влияния фиброгенной пыли на организм, могут быть выделены, как минимум три патогенетических лечебно-профилактических направления использования медикаментозных средств, по каждому из которых имеются отечественные или зарубежные препараты, вошедшие в "Реестр лекарственных средств России":

- усиление антиоксидантной защиты (АОЗ) органов дыхания;
- повышение устойчивости альвеолярных макрофагов;
- активация процессов регенерации эластического каркаса легких.

Для всех горнорабочих настоятельным условием сохранения здоровья и трудоспособности в своей профессии является необходимость бросить курить. Ни одно медицинское вмешательство не может сравниться по важности с прекращением курения, так как при этом снижается опасность развития не только профессиональной пылевой патологии, но и злокачественных новообразований. Между тем, вызывает крайнее беспокойство то, что лишь 17% горнорабочим, поступившим в клинику, местные врачи настоятельно рекомендовали бросить курить. В достижении этой цели врачу необходимо проявлять постоянную, неиссякаемую настойчивость, какой бы нереальной она ни казалась с первого взгляда.

Патогенетические методы лечения и профилактики пневмокониоза и хронического пылевого обструктивного бронхита должны быть направлены на нормализацию молекулярных и клеточных нарушений, лежащих в основе развития заболевания.

Лечение хронического обструктивного бронхита пылевой этиологии апробировано в большей мере, чем пневмокониозов. Лечебная тактика включает:

СРЕДСТВА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ

Поскольку первичный молекулярный механизм пагубного воздействия фиброгенной пыли на организм обусловлен длительным избыточным образованием в респираторном тракте АФК, рассмотрим прежде всего именно эту группу препаратов. В низких концентрациях АФК представляют собой продукты нормального клеточного метаболизма, играющие определенную физиологическую роль при выполнении ряда функций, прежде всего при фагоцитозе. Они не оказывают при этом негативного влияния в связи с существованием в организме мощных систем регуляции, поддерживающих их концентрацию на стационарном безопасном уровне. Именно сформировавшиеся в ходе эволюции антиокислительные механизмы делают понятной возможность нормального существования здорового организма в течение определенного времени в условиях значительно более высокой продукции АФК,чем обычно, при вдыхании запыленного воздуха, курении, работе в кессоне, воспалении и др.

Биохимические механизмы антиоксидантной защиты организма представляют собой сложную системы, в которой можно выделить три главных звена:

- антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза - СОД, пероксидаза, каталаза);
- низкомолекулярные антиоксиданты, синтезируемые в организме (глутатион, стероидные гормоны, убихинон, мочевина, аминокислоты, содержащие сульфгидрильные группы - цистеин, цистин и др.);
- естественные антиоксиданты, поступающие в организм с пищей.

В качестве средств патологической профилактики и терапии пылевой патологии две первые группы соединений в клинике еще не использовались. Важнейшая роль в укреплении системы АОЗ в наши дни принадлежит веществам третьей группы.

Главными из них являются альфа-токоферол (витамин Е) и аскорбиновая кислота (витамин С).

Витамин Е растворим в жирах. Он накапливается в фосфолипидах клеточных мембран и реагирует с радикалами липидов на месте их возникновения. Особая роль альфа-токоферола в системе АОЗ определяется также его способностью ингибировать фосфолипазу и увеличивать плотность упаковки фосфолипидов в клеточной мембране, повышая ее устойчивость.

Еще большее значение имеет витамин С. Аскорбиновая кислота растворяется в воде. Она реагирует с радикальными продуктами как внутриклеточно, так и в тканях, межклеточной жидкости и секретах, в частности, бронхиальной слизи и сурфактанте, определяя их

антиоксидантную способность. Именно так аскорбиновая кислота предохраняет слизистую бронхов от действия АФК, образующихся фагоцитами под влиянием микробов и вирусов, при вдыхании токсических веществ, выхлопных газов, табачного дыма, а также пылевых частиц. Кроме того, на внутренней поверхности клеточных мембран аскорбиновая кислота отдает свои восстановительные эквиваленты альфа-токоферолу, предохраняя организм от недостаточности витамина Е.

К группе естественных антиоксидантов относятся также бета-каротин, рутин (витамин Р) и микроэлементы цинк и селен, входящие в активные центры антиоксидантных ферментов. При экспериментальном асбестозе установлено выраженное лечебно-профилактическое действие рутина, обладающего сочетанными свойствами антиоксиданта и хелетора железа.

ГЛУТАМИНОВАЯ КИСЛОТА

Для повышения устойчивости альвеолярных макрофагов, предотвращения развития энергодефицитного состояния и внутриклеточной гипоксии в процессе фагоцитоза пылевых частиц может быть использован прямой субстрат окислительного фосфорилирования - янтарная кислота. Еще более эффективным оказался такой стимулятор биоэнергетических процессов, как глутаминовая кислота или глутамат натрия (кальция).

Глутаминовая кислота играет важную роль в жизнедеятельности организма. Помимо того, что стимулирует окислительные процессы и повышает устойчивость к гипоксии, она участвует в белковом и углеводном обменах, улучшает обезвреживание и выведение из организма аммиака, способствует синтезу ацетилхолина и АТФ, переносу ионов калия. Глутаминовая кислота относится к нейромедиаторным аминокислотам, проникающим через гематоэнцефалический барьер и стимулирующим передачу возбуждения в синапсах ЦНС.

При длительном применении глутаминовой кислоты возможно снижение содержания гемоглобина, лейкопения, а также развитие состояния возбуждения. Она противопоказана при лихорадочных состояниях, заболеваниях кроветворных органов, печени, почек, гиперацидном гастрите.

Если прием антиоксидантов возможен при амбулаторном лечении, то глутаминовую кислоту следует назначать преимущественно во время пребывания в стационаре. В период лечения необходимо систематически исследовать мочу и кровь.

ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕОЛИЗА

Поскольку непосредственная причина возникновения обструктивного синдрома при хроническом пылевом бронхите заключается в нарушении равновесия в системе протеазы - ингибиторы протеаз в легочной ткани, восстановление нормального соотношения их активности составляет одну из важных задач комплексной терапии заболевания. С этой целью могут быть использованы природные ингибиторы протеолиза, в частности, контрикал. Препарат получают из поджелудочной железы крупного рогатого скота. Он имеет полипептидную природу и обладает способностью ингибировать активность трипсина и ряда других протеаз, в том числе эластазы и коллагеназы. Активность препарата выражается в антитрипсиновых единицах действия - ЕД.

При лечении хронического пылевого обструктивного бронхита контрикал вводится в легкие в виде аэрозоля в изотоническом растворе натрия хлорида. Для этого используют ультразвуковые ингаляторы, создающие аэрозоли с оптимальным размером частиц, проникающих до альвеолярной области легких, и не изменяющие температуру распыляемого раствора. Использование контрикала в виде аэрозоля обеспечивает его высокую местную концентрацию и равномерное распределение препарата в бронхиальном дереве. Ингаляции проводят один раз в день в дозе 5000 ЕД. Лечение продолжается не менее 30 дней. Заместительная аэрозольная терапия природным поливалентным ингибитором протеолиза нормализует в сыворотке крови в большей степени антиэластазу, чем антиколлагеназу [18]. Следовательно, контрикал предпочтительно ингибирует фермент эластазу, что обеспечивает ресинтез эластина и восстановление структуры эластического волокна. Меньшее влияние препарата на фермент коллагеназу также выгодно больным, так как не влечет за собой избыточного склерозирования легочной ткани. Установлено также, что аэрозоль контрикала можно назначать длительно без прикрытия гепаринотерапии, так как наряду с торможением фибринолиза он удлиняет время свертывания крови, предотвращая тромбообразование.

Аллергических реакций при аэрозольном введении контрикала не наблюдалось. Вместе с тем, индивидуальная чувствительность к препарату может быть определена с помощью кожной пробы при введении 0,2 мл ингалируемого раствора.

Наряду с вышеперечисленными патогенетическими средствами лечения пылевой патологии, следует остановиться на двух направлениях симптоматической терапии, поскольку в свете проведенных исследований они приобретают новое значение: противовоспалительных и бронхорасширяющих средствах.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

При хроническом пылевом обструктивном бронхите воспалительные изменения слизистой респираторного тракта всегда в большей или меньшей степени выражены. Однако длительный период они не имеют инфекционной природы, а обусловлены влиянием АФК, образуемых гипертрофированными конпофагами. Только после "виража" хемилюминесцентного ответа фагоцитов, т.е. подавления кислородзависимой бактерицидной системы лейкоцитов крови и/или бронхоальвеолярных смывов, инфекционное воспаление бронхов приобретает самодовлеющее значение. Прежние представления о бактериальном воспалении как ведущей причине обструкции бронхов, нашедшие наиболее завершенное выражение в инфекционно-аллергической теории бронхиальной астмы А.Д.Адо - П.К.Булатова, заставляли считать главным компонентом раннего лечения хронического пылевого бронхита антибактериальные препараты. Многим больным такая тактика приносила не пользу, а вред, приводя к развитию аллергической лекарственной болезни. Воспалительный компонент хронического обструктивного пылевого бронхита, если он выражен на ранней стадии заболевания до "виража" хемилюминесцентного ответа фагоцитов, следует уменьшать с помощью кортикостероидов, а не антибиотиков.

К тому же преднизолон в широком диапазоне концентраций более чем на 90% ингибирует хемилюминесценцию макрофагов, обусловленную воздействием на клетки минеральных частиц, но в то же время не способен химическим путем взаимодействовать непосредственно с радикалами кислорода. Противовоспалительный эффект кортикостероидов обусловлен влиянием их на активность ферментных систем фагоцитов, осуществляющих выработку АФК. Таким образом, положительное воздействие препарата на больных хроническим пылевым обструктивным бронхитом в определенной мере обусловлено его опосредованным антиоксидантным действием.

Кортикостероиды находят применение при бронхиальной астме. Поэтому некоторые авторы рекомендуют их и при хроническом обструктивном бронхите для улучшения функции внешнего дыхания. В этом своем качестве они эффективны у 15-20% больных. Однако снижения бронхиальной обструкции гарантированно и с меньшим риском развития осложнений можно добиться и с помощью бронходилататоров. Поэтому длительное применение гормональных препаратов для борьбы с обструктивным синдромом у больных с хроническим пылевым бронхитом представляется мало оправданным.

Что касается антибиотиков, то их назначение неизбежно у больных с подавленной кислородзависимой бактерицидной системой лейкоцитов, когда мокрота начинает приобретать гнойный характер и появляются другие признаки начала обострения процесса. При выборе

антибиотиков следует отдавать предпочтение тем препаратам, которые, во-первых, имеют спектр действия, охватывающих основных возбудителей инфекции дыхательных путей; во-вторых, в меньшей степени угнетают функции иммунной системы. Последняя при хроническом пылевом обструктивном бронхите начинает страдать уже через 5-6 лет от начала проявления клинических признаков заболевания.

К числу таких препаратов относятся, в частности, модивид-цефалоспорин третьего поколения, который наряду с широким спектром действия обладает еще и иммуномодулирующим влиянием, а также ингаляционный антибиотик биопарокс (фузафунгин). Этот препарат, полученный из грибов рода фузариум, не относится ни к одному из существующих классов антибиотиков, активен в отношении основных возбудителей респираторных инфекций, обладает противовоспалительным эффектом (снижает содержание свободных радикалов) и не оказывает системного воздействия на иммунный статус организма.

БРОНХОРАСШИРЯЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

При хроническом пылевом обструктивном бронхите пробы с бронхолитиками часто не дают выраженной ответной реакции, характерной для бронхиальной астмы. Это порождает представление о наличии у больного "необратимой" обструкции и сомнения в обоснованности применения бронходилатирующих средств. Однако описанный выше особый механизм сужения бронхов у таких больных делает подобные опасения напрасными. Как показывает наш опыт, а также опыт немецких авторов [28], бронхорасширяющая терапия может принести существенное клиническое улучшение, наступающее обычно не сразу, а через 7-10 дней, когда объективное исследование показывает улучшение функций внешнего дыхания. При применении бронхолитиков следует стремиться к тому, чтобы их действие проявлялась на протяжении всех суток, но особенно при физических усилиях. В этом случае снижение мышечного тонуса бронхиол означает выигрыш резерва дыхания в процессе физической нагрузки. Указанный эффект достигается не за счет ликвидации бронхоспазма, который (если не присоединяется "астма физического усилия") у больных обычно отсутствует, а в результате снижения мышечного тонуса ниже нормального уровня. В определенной мере это напоминает использование нитратов при коронарной недостаточности. Как бы то ни было, предпочтительнее применение бронхолитиков пролонгированного действия, особенно в виде ингаляции. Такой путь введения препарата обеспечивает хороший результат и сводит к минимуму количество системных побочных эффектов по сравнению с приемом внутрь. При лечении хронических обструктивных заболеваний легких могут применяться два класса

ингалируемых бронхорасширяющих препаратов: антихолинергические средства и антагонисты β_2-рецепторов.

Для больных хроническим пылевым обструктивным бронхитом в большей мере подходят антихолинергические средства. Они вызывают выраженное и стойкое расширение бронхов и дают меньше побочных реакций, чем адренергические препараты. К тому же эффективность антихолинергических средств не снижается в течение многих лет регулярного применения [24].

Определение эффективности патогенетической терапии пневмокониоза и хронического пылевого обструктивного бронхита базируется на трех группах показателей. Первая - клиническое состояние больного, вторая - функция внешнего дыхания, третья - лабораторные исследования. До последнего времени третья группа показателей считалась мало информативной и значимой. Однако выяснение молекулярных и клеточных механизмов развития заболевания повысило роль лабораторных исследований.

К числу наиболее информативных лабораторных исследований при хроническом обструктивном пылевом бронхите относятся методы, характеризующие способность лейкоцитов к генерации активных форм кислорода, содержание продуктов ПОЛ в плазме крови, активность ферментов АОЗ, а также соотношение активности протеаз и ингибиторов протеаз.

Клинические испытания лечебной программы начались в конце 1995 года в самом тяжелом угольном бассейне страны. Однако во второй половине 1996 года финансирование программы прекращено.

В первую очередь в реализации лечебной программы нуждаются горнорабочие очистных забоев, подвергающиеся наиболее массивному воздействию фиброгенной пыли. На угольных шахтах лечение следует начинать при стаже подземной работы в среднем 10 лет. Но решающим показателем служит развитие у горнорабочего начальных проявлений обструктивного синдрома, устанавливаемых на основании исследования функции внешнего дыхания или начальных рентгенологических изменений легочного рисунка. При обнаружении таких проявлений патологического процесса лечение следует проводить и при меньшем стаже.

***
*

Считаю своим долгом выразить глубокую благодарность членам Ученого совета и ректору Российского государственного медицинского университета академику РАМН В.Н.Ярыгину, доверившим мне почетное право выступить с актовой речью в 1997 году, обобщающей результаты многолетних исследований коллектива лаборатории патогенеза и экспериментальной терапии пневмокониозов РГМУ, а также ближайших сподвижников и учеников.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Арчаков А.И.* Оксигеназы биологических мембран. - М, 1983. - С.55
2. *Бейлина В.Б., Шевелев В.И., Аюросов В.В. и др.* Роль супрессии фагоцитирующих лейкоцитов респираторного тракта в патогенезе хронического бронхита // Пульмонология. - 1992. - No. 2 - С.25-27.
3. *Величковский Б.Т.* Фиброгенные пыли. Особенности строения и механизма биологического действия. - Горький, 1980. - С.160.
4. *Величковский Б.Т.* О механизме воздействия фиброгенной пыли на организм // Гиг. и сан. - 1994. - No. 2. - С.4-10.
5. *Величковский Б.Т.* Патогенез профессиональных заболеваний легких пылевой этиологии // Мед. труда. - 1994. - No. 5-6. - С.1-8.
6. *Величковский Б.Т., Владимиров Ю.А., Коркина Л.Г., Суслова Т.Б.* Физико-химический механизм взаимодействия фагоцитирующих клеток с фиброгенными пылями // Вест. АМН СССР. - 1982. - No. 10. - С.45-51.
7. *Величковский Б.Т., Коркина Л.Г., Черемисина З.П., Суслова Т.Б.* Механизм инициирования и роль свободных радикалов в цитологическом воздействии фиброгенных пылей на макрофаги // Борьба с силикозом. - М.: Наука, 1986. - Т.12. - С.174-187.
8. *Величковский Б.Т., Коркина Л.Г., Суслова Т.Б. и др.* Основные молекулярные механизмы цитотоксического действия фиброгенных пылей // Там же. - 1988. - No. 1. - С.7-14.
9. *Величковский Б.Т., Коркина Л.Г., Черемисина З.П. и др.* Способ дифференциальной диагностики силикоза и хронического пылевого бронхита: А.с. 1437779 СССР 1989.
10. *Величковский Б.Т., Черемисина З.П., Коркина Л.Г. и др.* Хемилюминесцентный анализ функционального состояния фагоцитов крови при силикозе и хроническом пылевом бронхите // Сов.мед. - 1990. - No. 4 - С.14-16.
11. *Громов К.Г., Величковский Б.Т., Яхъяев А.В. и др.* Сопоставление цитотоксичности кузбасских углей разного марочного состава // Гиг.труда. - 1988. - No. 3. - С.26-28.
12. *Даугель-Дауге Н.О.* Исследование мутагенеза, индуцированного минеральными пылями: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. - М., 1992.
13. *Измеров Н.Ф. (Рео.)* Руководство по профессиональным заболеваниям. // Т.2. - М., 1983.
14. *Измеров Н.Ф., Лебедева Н.В.* Профессиональная заболеваемость. - М., 1993. - С.224.
15. *Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н.* Иммунорегуляторная роль моноцитов в норме и при иммунопатологии. (Итоги науки и техники. Иммунология. Т.27.) - М., 1991.
16. *Коркина Л.Г., Ильинская О.П., Величковский Б.Т.* Биолюминесцентное определение АТФ в перитонеальных макрофагах, фагоцитирующих пылевые частицы // Гиг.труда. - 1983. - No. 3 - С.22-26.
17. *Коркина Л.Г., Суслова Т.Б., Гуляева Ж.Г. и др.* Хемилюминесценция перитонеальных макрофагов, активированная неприродными полиэлектролитами // Доклады АН СССР. - 1985. - Т. 282 - No.1. - С. 206-209.
18. *Кругликов Г.Г., Величковский Б.Т.* Структурно-функциональные изменения макрофагов при фагоцитозе частиц каменного угля // Гиг. и сан. - 1986. - No. 2 - С.20-23.
19. *Лещукович Ю.В.* Типовая эпидемиологическая характеристика основных форм хронических неспецифических заболеваний легких у взрослых // Пульмонология. - 1994. - No. 3 - С.57-62.

20. *Морозова Т.И., Хузик Л.Б.* Влияние природных ингибиторов протеаз на гомеостаз у больных туберкулезом легких // Пробл.туб. - 1993. - No.3. - С.27-30.
21. *Палеев Н.Р.* (Ред.) Болезни органов дыхания: Руководство для врачей. Т.3. Частная пульмонология. - М., 1990.
22. *Путов Н.В.* Хронический бронхит: спорные и нерешенные вопросы // Пульмонология. - 1991. - No.1. - С.9-15.
23. Свободные радикалы в живых системах / Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. (итоги науки и техники. Биофизика. Т.29) - М.: ВИНИТИ, 1991.
24. Рабочая группа Канадского торакального общества. Основные направления исследования и лечения хронических обструктивных заболеваний легких // Тер.арх. - 1995. - No.3. - С. 55-58.
25. *Середенин С.Б., Дурнев А.Д.* Фармакологическая защита генома. - М., 1992. - С. 160.
26. *Соодаева С.К.* Свободнорадикальные механизмы влияния асбестовых волокон на организм. - Автореф. дис. докт. мед. наук. - М., 1996.
27. *Соодаева С.К., Коркина Л.Г., Величковский Б.Т., Клегерис А.И.* Образование активных форм кислорода перитонеальными макрофагами крыс под влиянием цитотоксических пылей // Бюл. экспер. биол. - 1991. - No.9. - С. 252-254.
28. *Ульмер В.* Патофизиологические основы обструктивных заболеваний дыхательных путей и терапевтическая тактика // Ингаляционный бронхоспазмолиз. Симпозиум СССР - ФРГ. - М., 1990. - С. 1-22.
29. *Фенелли К.П., Стулберг М.С.* Хронический бронхит // Пульмонология. - 1994. - No.2. - С. 6-13.
30. *Черемисина З.П., Суслова Т.Б., Коркина Л.Г. и др.* Хемилюминесцентное исследование окислительного метаболизма лейкоцитов крови при пылевых заболеваниях органов дыхания // Гиг. и сан. - 1992. - No.2. - С. 25-27.
31. *Beatty K., Bieth I., Travis I.* // J. Biol. Chem. - 1980. - Vol. 259, No.9. - P. 3931-3934.
32. *Durnev A.D., Dauget-Dauge N.O., Korkina L.G. et al.* Distant effects of a clastogenic action of zeolite particles and chrysolite-asbestos fibers // European Environmental Mutagen Society. Annual Meeting, 23-rd% Abstracts. - Barcelona, 1993. - P. 247.
33. *Gusev V.A., Dandovskaja Ye.V., Vatolkina O.Y.* Effect of quarts and aluminia dust on generation of superoxide radicals and hydrogen peroxide by alveolar macrophages, granulocytes and monocytes // Br. J. Industr. Med. - 1993. - Vol.50. - P.732-735.
34. *Korkina L.G., Suslova T.B., Cheremisina L.P., Valichkovski B.T.* Catalytic properties of asbestos fibers and their biological activity. // Stud. Biophys. - 1988. Vol.126, No.2. - P. 99-104.
35. *Levin S.A., Kidd D.M.* Antioxidant Adaptation. Its Role in Free Radical Pathologies. - San Leandro, 1986. GA. - 945577.
36. *Robock K.* // Zytotoxiritat von Stauben. Prat. Pneumol., 1974. No.28, S. 803-813.
37. *Wagner G.R., Attfield M.D., Althous R.B. et al.* Surveillance of Pneumoconiosis on underground coal miners in the USA 1970-1986 // International Conference on Occupational Lung Diseases, 8th. - Prague, 1992. P. 568-573.
38. *Weitzmann S.A., Graceffa P.* Asbestos catalyzes hydroxyl and superoxide radical generation from hydrogen peroxide // Arch. Biochem. Biophys. - 1984. - Vol. 228. - P. 373 - 376.
39. О состоянии профессиональной заболеваемости и условий труда на предприятиях Российской Федерации в 1991-1995 гг., Деятельность ЦГ СЭН по предупреждению заболеваний / Подунова Л.Г., Степанов С.А., Герасимова

П.В. и др. (Здоровье населения и среда обитания). Труд и здоровье человека. - Часть I и II. - М.: Госкомсанэпиднадзор, 1992. - С.58