

1. Извлечь из трупa крысы легкое с трахеей и сердцем, проверить целостность структуры, обмыть от сгустков крови (не заливая водой трахею). Осторожно отрезать сердце и крупные сосуды, оставив наименьшее количество клетчатки средостения вокруг корня легкого, чтобы не повредить трахею и легкое (последние осушают марлей в несколько слоев). 2. Взвесить легкое с трахеей. 3. Ввести в трахею и зафиксировать лигатурой иглу с канюлей. 4. Для получения жидкости БАЛ отсосать воздух (кровь) из трахеи, ввести через канюлю шприцем 4 мл 0,9 %-ного раствора хлорида натрия. Физиологический раствор хлорида натрия сохранять в термобане при температуре 37 °С. Обычно его требуется не более 30 мл на крысу в каждой серии исследования. Введенным в легкое раствором в течение 2 мин промывать легкое с повторным отсасыванием и введением жидкости при постоянном мягком массаже тканей. Через 2 мин полностью отсосать шприцем введенный раствор и перенести в пробирку (емкостью до 30 мл) для сброса жидкости БАЛ. Повторять введение следующей порции физраствора (по 4 мл) в тех же условиях и столько раз, чтобы суммарный объем введенного раствора соответствовал десятикратной массе легкого с трахеей. Например, при массе легкого с трахеей крысы 2,8 г — вводить 28 мл физиологического раствора. Последнюю порцию смывать тщательно выжать из легких. 5. Полученную жидкость БАЛ сразу же центрифугировать в течение 10 мин при 300 g для удаления клеток (макрофагов, эритроцитов), изменяющих своими ферментами состав сурфактантов.

Извлекаемый объем жидкости БАЛ обычно не превышает 70—75 % объема, вводимого для смыва. Жидкость светлая, слегка опалесцирующая, содержит поверхностно-активные липидно-белковые комплексы. При экспериментах с легким небольшой массы (до 1—1,5 г) во избежание его разрыва при лаваже следует уменьшить каждую порцию промывной жидкости и увеличить число повторных промываний, но сохранять общий объем вводимой жидкости в пределах десятикратной массы легкого с трахеей. Такой подход к получению жидкости БАЛ устраняет неоднородность результатов, характеризуется стандартными условиями по количественным и временным параметрам, особенно необходимым в серийных исследованиях. Полученная жидкость может быть использована для биохимических и физико-химических методов анализа сурфактантов.

Рассматривая выстилающий альвеолярный комплекс как мембраноподобные структуры, мы применили наш метод получения жидкости БАЛ для оценки влияния на сурфактанты витаминов А и Е, мембранотропные функции которых и механизмы их мембранных эффектов применительно к сурфактантам легкого не изучены. Экспериментальный дефицит витаминов А и Е создавали кормлением крыс полусинтетической пищей, лишенной ретинола и токоферола в течение 12—14 нед [5]. В жидкости БАЛ определяли содержание фосфолипидов [6], белка [3].

Концентрация фосфолипидов в жидкости БАЛ в контрольной группе крыс колебалась во всем объеме смывов от 2,09 до 3,6 мг/мл,

Содержание фосфолипидов и белка в жидкости БАЛ у крыс с экспериментальным гиповитаминозом А и Е ($M \pm m$), мг/г легкого

Исследуемый показатель	Норма витаминов А и Е (24)	Дефицит витаминов	
		А (35)	Е (24)
Концентрация, мг/г: фосфолипидов	2,11 ± 0,13	1,33 ± 0,19 ($P < 0,001$)	1,18 ± 0,08 ($P < 0,001$)
белка	52,39 ± 8,17	54,04 ± 7,31	59,30 ± 7,21

составляя в среднем $2,8 \text{ мг/мл} \pm 0,12 \text{ мг/мл}$. Результаты опытов показали (таблица) выраженное снижение фосфолипидов в жидкости БАЛ ($P < 0,001$), содержание белка значительно не изменилось. Соотношение: белок/фосфолипиды в жидкости БАЛ отличалось у экспериментальных животных от контрольной группы. Например, при дефиците витамина Е оно составляло 22,09 в контроле и 51,5 — в опыте. Такие нарушения состава бронхо-альвеолярных смывов подтверждают влияние витаминов А и Е на липидный компонент сурфактантов и могут извращать их функцию, что требует дальнейшего уточнения.

Достоверные результаты, полученные предлагаемым нами методом выделения жидкости БАЛ у крыс, позволяют считать возможным его использование в экспериментах.

THE TECHNIQUE FOR EXPERIMENTAL STUDY OF LUNG SURFACTANTS

O. A. Yakovleva, A. A. Pentyuk

Experimental studies on rats have permitted suggesting a new technique to obtain the liquid phase of bronchoalveolar lavage which differs from the traditionally accepted techniques in the following: the volumes of solutions introduced into the rat lungs correspond to the ten-fold weight of lungs with trachea (the solutions are introduced in aliquot small portions). Its advantage is a quantitative and temporal similarity of the attained parameters.

N. I. Pirogov Medical Institute, Ministry of Public Health
of the Ukrainian SSR, Vinnitsa

1. Березовский В. А., Горчаков В. Ю. Поверхностно-активные вещества легкого.— Киев: Наук. думка, 1982.—168 с.
2. Биркун А. А., Нестеров Е. Н., Кобозев Г. В. Сурфактант легких.— Киев: Здоров'я, 1981.—160 с.
3. Кочетков Г. А. Практическое руководство по энзимологии.— М.: Высш. шк., 1980.—272 с.
4. Сурфактанты легкого в норме и патологии: Сб. науч. тр. / Под общ. ред. Березовского В. А.— Киев: Наук. думка, 1983.—184 с.
5. Экспериментальная витаминология: (Справочное руководство) // Под ред. Островского Ю. М.— Минск: Наука и техника, 1979.—57 с.
6. Stewart J. Ch. M. Colorimetric determination of phospholipids with ammonium ferri-thiocyanate // Anal. Biochem.—1980.—104, N 1.—P. 10—14.

Винниц. мед. ин-т им. Н. И. Пирогова
М-ва здравоохранения УССР

Поступила 13.12.85

УДК 612.28+612.78

Генез ощущений, связанных с дыханием

И. С. Бреслав, К. С. Рымжанов

Как известно, в обычных условиях дыхательный акт совершается автоматически не только в своем эффекторном звене, но и соответственно в афферентном. Действительно, нормальное, спокойное дыхание (эупное), как правило, человеком не ощущается. Вместе с тем человек легко может дать отчет о характере своего дыхательного акта (глубине дыхания и частоте), как только последний становится объектом специального внимания [2, 7, 9]. Конечно, все дело в особом положении дыхания по сравнению с другими висцеральными функциями: респираторная мускулатура участвует не только в обеспечении вентиляции легкого, но и в поведенческих, локомоторных актах, а также в фонации, т. е. в деятельности произвольного, осознанного характера.

Однако проблема восприятия человеком всего дыхания не так проста. Каковы источники ощущений, позволяющих нам оценивать дыхательный акт и произвольно им управлять? Как изменяются эти ощущения в экстремальных условиях и патологических состояниях? Эти вопросы представляют не только теоретический интерес. Они привлекли к себе пристальное внимание в связи с распространением хронических неспецифических заболеваний легкого, бронхиальной астмы — болезней, которые сопровождаются ощущением затруднения дыхания. Подобные ощущения зачастую лежат в основе общеизвестного, но очень сложного по своему патогенезу феномена одышки.

В этом обзоре мы не будем специально останавливаться на аспектах проблемы одышки, а ограничимся кратким рассмотрением современных данных, касающихся физиологической природы дыхательных ощущений.

Восприятие нормального дыхания. Способность человека ощущать свое дыхание и, следовательно, произвольно им управлять изучали многие исследователи (в том числе и мы) в экспериментах с заданным режимом дыхательных движений: их ритма, глубины [2, 7, 9]. Мы, например, исследовали, насколько правильно человек может оценивать предъявляемый ему уровень вентиляции легких, для чего использовали разработанное в нашей лаборатории устройство, вынуждавшее испытуемого дышать с заданной частотой и глубиной [2]. Выяснилось, что человек быстро научается оценивать этот уровень, а средняя ошибка оценки не превышает $3\% \pm 5\%$ нормального объема. Однако, если эксперимент начинали, задавая не обычный для покоя, а измененный (больший или меньший) минутный объем дыхания, испытуемый соответственно завышал или занижал оценку уровня вентиляции, предъявляемого ему в дальнейшем. Этот факт согласуется с результатами психофизиологических исследований: при оценке ряда сравниваемых количественных характеристик человек пользуется в качестве ориентира той, которая предъявляется первой [28].

Katz-Salamon [23, 24] установила, что отношение между фактическим увеличением уровня вентиляции и увеличением, оцененным испытуемым, адекватно описывается экспонентой, которая оказалась близкой к единице, а минимально обнаруживаемое испытуемыми из-

менение этого параметра составляло 23—28 % исходного его значения. Причем человек точнее оценивает глубину, нежели частоту дыхания, что убедительно продемонстрировали результаты тех экспериментов, в которых предлагали вдыхать различный объем воздуха, каждый из которых соответствовал той или иной доле жизненной емкости легких (ЖЕЛ).

Данные, важные для расшифровки источников ощущений, которыми пользуется человек, оценивая свой дыхательный акт, получены в экспериментах с активным воспроизведением заданных параметров дыхания.

Результаты, полученные в нашей лаборатории [2], показали, что человек путем слежения за собственной спирограммой легко научается поддерживать постоянный, нормальный для него, или измененный, конечно, до известных границ, дыхательный объем и обретает способность воспроизводить тот же объем, уже не видя спирограммы. «наизусть». Правда, как подтвердили наблюдения других авторов [38], если испытуемый дышал вместо обычного воздуха гипоксической и особенно гиперкапнической смесью, он непроизвольно превышал заданный ему дыхательный объем, а при ингаляции гипероксической смеси, напротив, снижал его: изменения регулируемого параметра, происходящие за счет усиления или ослабления хеморецепторной стимуляции, оставались как бы неучтенными. Этот факт согласуется с тем, что гиперкапническая и гипоксическая стимуляция не находит прямого отражения в ощущениях человека [1]. Какими же сенсорными ориентирами он руководствуется, произвольно управляя своим дыханием?

Если мы незаметно для испытуемого немного увеличивали сопротивление его инспираторному потоку, воспроизводимая им глубина дыхания становилась меньше заданной. Если же сопротивление дыханию уменьшали, заменяя азот вдыхаемого воздуха гелием, дыхательный объем становился больше заданного. Подчеркнем: во всех этих случаях человек думал, что он поддерживает постоянный, заданный ему режим дыхания. В условиях навязанного с помощью специального регулирующего устройства иного режима внешнего дыхания повышение плотности дыхательной смеси (добавление в нее шестифтористой серы) создает у человека иллюзию углубления дыхания, а снижение ее плотности (замена азота гелием) вызывает обратный эффект [4, 11]. Наконец, экспоненты, описывающие связь между фактическими значениями и самооценкой соответствующих параметров, оказались для дыхательного объема и средней скорости инспираторного потока примерно одинаковыми [33].

Приведенные факты свидетельствуют о том, что ощущения, которыми человек пользуется, оценивая и целенаправленно регулируя параметры своего дыхания, связаны с усилием, развиваемым дыхательными мышцами. К такому же выводу пришли многие исследователи [12, 22, 26, 33, 34, 38]. Недаром оценка испытуемыми объемов вдохнутого и выдохнутого воздуха оказалась наиболее затруднительной в зонах легочной емкости, близкой к функциональной остаточной емкости легких, т. е. при наименьшем напряжении респираторной мускулатуры [32], а вызванное естественными стимулами (мышечной нагрузкой, ингаляцией смеси воздуха с CO_2) повышение уровня вентиляции распознается, когда дыхательный объем возрастает на определенное для каждого человека значение (в среднем на 0,7 л) [36]. Логично предположить, что источником таких ощущений служат рецепторы растяжения межреберных мышц, особенно богатых (по сравнению с остальной скелетной мускулатурой) мышечными веретенами [5 и др.]. И хотя не менее 75—80 % уровня вентиляции легких обеспечивается сокращениями диафрагмы, именно межреберные мышцы могут служить для человека «измерителями» дыхательного объема (Menton, 1970. Цит. по Бреслав [2]). Действительно, самооценка дыхательного объема показала его корреляцию с электрической активностью этих мышц [22].

Коль скоро человек ощущает свое дыхание через усилие, развиваемое респираторными мышцами, рассматриваемые сенсорные механизмы, очевидно, позволяют нам оценивать прежде всего сопротивление, преодолеваемое этими мышцами. Закономерности восприятия дыхательного сопротивления заслуживают, однако, специального анализа.

Восприятие сопротивления дыханию. Если в условиях спокойного дыхания неожиданно для испытуемого резко увеличить инспираторное сопротивление, глубина первого «нагруженного» вдоха оказывается уменьшенной по сравнению с глубиной «спокойного» вдоха, хотя глубина последующих вдохов быстро достигает нормального уровня в связи с возросшим инспираторным усилием. При повторном предъявлении той же нагрузки глубина первого вдоха бывает не меньше обычной, а зачастую и больше [3]. Это — отнюдь не условный рефлекс: в своих словесных отчетах испытуемые указывают, что ощущают повышенное дыхательное сопротивление.

Каково минимальное добавочное (искусственное, внешнее) сопротивление дыханию, воспринимаемое человеком, т. е. каков порог распознавания, детекции?

Следует различать два вида такого сопротивления: эластическое, создаваемое обычно с помощью дыхания из замкнутой емкости с ригидными стенками, и неэластическое, или резистивное, например, при дыхании через узкую трубку. Исследователями [14, 17, 39] установлено, что пороги восприятия эластической нагрузки колеблются в пределах 5—5,2 Па·(с/л) и момент ее обнаружения испытуемыми совпадает с концом вдоха, т. е. с максимальным растяжением легких. Резистивная же нагрузка распознается при пороговых значениях от 2 до 44 Па·(с/л), причем обычно в середине вдоха, в момент максимальной скорости инспираторного потока и с соответственно меньшей, чем эластическая, латенцией. Таким образом, в обоих случаях детекция увеличенного сопротивления сопряжена с той фазой дыхательного цикла, в которой при данной нагрузке респираторным мышцам приходится развивать наибольшее усилие. О том же свидетельствуют отношения между восприятием двух видов сопротивления дыханию: на фоне постоянной эластической нагрузки повышается порог распознавания резистивной нагрузки, тогда как исходная резистивная нагрузка не меняет порога восприятия добавочной эластической нагрузки [15].

Пороговое значение детекции человеком резистивной нагрузки не меняется при увеличении легочной вентиляции, вызванном ингаляцией гиперкапнической смеси или работой. Следовательно, здесь воспринимается именно сопротивление дыханию, а не поток или объем вдыхаемого воздуха [25]. При переходе от большего сопротивления дыханию к меньшему последнее вообще перестает ощущаться [27]. На фоне уже включенного (исходного) сопротивления порог распознавания его прироста соответственно повышается [31]. Эксперименты показали, что минимально различимое человеком изменение сопротивления дыханию представляет собой не абсолютное значение, а определенную долю его исходного значения в соответствии с законами Вебера — Фехнера и Стивенса [34, 37 и др].

За последние годы вошли в употребление психофизиологические методы, с помощью которых человек оценивает предъявляемое сопротивление дыханию количественно, в аналоговой форме: он либо сжимает ручной динамометр с силой, пропорциональной испытываемому ощущению [34, 41], либо выставляет на условной шкале точку, положение которой должно отражать значение ощущаемой дыхательной нагрузки (так называемое визуальное аналоговое шкалирование [14, 19]). Оба эти метода дают высокую корреляцию между фактическим значением преодолеваемого сопротивления, измеряемым перепадами давления в дыхательных путях и значением, получаемым в результате самооценки сопротивления испытуемым [30].

Остановимся на данных, которые могут пролить свет на природу рассматриваемых ощущений. Большая часть авторов считает, что источ-

ником ощущений служат афференты респираторных мышц [14, 17, 20, 29, 41]. Как уже говорилось, речь идет главным образом о мышечных веретенах межреберной мускулатуры. Однако здесь нельзя исключить и предполагаемого участия рецепторного аппарата диафрагмы [18]: при включении добавочного резистивного или эластического сопротивления на протяжении вдоха детекции этой нагрузки испытуемым обычно предшествует рост трансдиафрагмального давления [40]. Большинство авторов находит, что резистивная нагрузка лучше воспринимается на вдохе [29 и др.]. Особенно четкую оценку градации инспираторного сопротивления испытуемым показали в экспериментах, где они с помощью биоуправления поддерживали определенную заданную скорость инспираторного потока [35]. Однако некоторые исследователи пришли к выводу, что отчетливее воспринимается сопротивление на выдохе [13]. Во всяком случае, механизмы ощущений, связанных как с инспираторной, так и с экспираторной нагрузками, по-видимому, сходны [29].

Может ли в формировании этих ощущений участвовать сигнализация из других, немускульных, афферентов дыхательной системы?

Поскольку при включении внешнего сопротивления дыханию прежде всего резко возрастают перепады давления в просвете верхних дыхательных путей [6, 8, 37], логично предположение о значительной роли локализованных здесь рецепторов (Noble et al., 1970. Цит. по: Франкштейн [10] и др.). Но такому взгляду противоречат наблюдения, которые доказали почти нормальную способность распознавать добавочное сопротивление дыханию пациентами, дышавшими через трахеостому [17]. Эта способность не нарушалась и после анестезии верхних дыхательных путей здоровых испытуемых [18]. Пока противоречивы данные, касающиеся значения, которое имеют в этом плане механорецепторы легкого [21]. Не все окончательно выяснено и в отношении функции респираторных мышц, этих признанных детекторов сопротивления дыханию. Здоровые испытуемые после курарезации утрачивали способность распознавать лишь небольшое добавочное дыхательное сопротивление и в то же время переоценивали большие нагрузки, исходя из чего заключили [16], что человек в таких условиях воспринимает не афферентную информацию, а «уходящие моторные команды». Об этом же свидетельствует сохранение способности оценивать размер инспираторного усилия больными с травматическим повреждением нижней части шейного отдела спинного мозга [21].

Конечно, в оценке человеком рассматриваемых дыхательных нагрузок очень большую и трудноучитываемую роль играет состояние центральных механизмов, участвующих в формировании ощущений. Подтверждающим примером могут служить исследования, проведенные нами со здоровыми испытуемыми, прошедшими предварительное обучение оценке развиваемого ими инспираторного усилия. Это усилие измерялось значением инспираторного давления на манометре, а испытуемый оценивал это усилие по своим ощущениям, сдавливая с соответствующей силой упругий баллон, соединенный с другим манометром. Как при свободном дыхании, так и при включении умеренного резистивного сопротивления человек в большинстве случаев точно оценивал свое инспираторное усилие, а когда добавочное дыхательное сопротивление сочеталось с нетяжелой работой на велоэргометре, что вызывало гиперкапнический сдвиг — значительный рост P_{CO_2} альвеолярного газа, проявлялась тенденция приуменьшить свои показания по сравнению с фактическим значением оцениваемого усилия. Когда же с помощью разработанного в нашей лаборатории метода биоуправления альвеолярным P_{CO_2} путем произвольной регуляции дыхания [2] гиперкапнический сдвиг при сочетании дыхательного сопротивления и работы устраняли, самооценка инспираторного усилия, напротив, значительно превышала фактическую, т. е. человек испытывал резкое затруднение дыхания. Столь неожиданный результат можно объяснить следующим образом. Перекладывая, образно говоря, управление дыхательными движениями с естественных механизмов на произвольную