

УДК 616.2-008,6;616.24-002:616-091;616-08:615.23

© Н. Ю. Новиков, Л. В. Тышкевич, К. Н. Джансыз, 2012.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АЭРОГЕМАТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ ОСТРОМ РЕСПИРАТОРНОМ ДИСТРЕСС-СИНДРОМЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н. Ю. Новиков, Л. В. Тышкевич, К. Н. Джансыз

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь.

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES OF AN AIR-BLOOD BARRIER IN ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME IN THE EXPERIMENT

N. Yu. Novikov, L. V. Tyskevich, K. M. Djangsyz

SUMMARY

The progression of necrotic-destructive processes with increasing of inflammatory infiltration and exudation an experimental model of acute lung injury is found out. The changes inflammatory-reparative reaction to fibrosis was observed on 6th days in the lungs of experimental animals, which had administrations of antibiotics and artificial surfactant preparation. A destructive-inflammatory feature to regenerative changes on the 6th day of the experiment was not completed under antibiotic treatment strategies.

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ АЕРОГЕМАТИЧЕСКОГО БАР'ЄРУ ПРИ ГОСТРОМУ РЕСПИРАТОРНОМУ ДИСТРЕСС-СИНДРОМУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

М. Ю. Новіков, Л. В. Тишкевич, К. М. Джансиз

РЕЗЮМЕ

В експериментальній моделі синдрому гострого легеневого ушкодження зміни в легенях тварин характеризуються прогресуванням некротичних-деструктивних процесів з наростанням запальної інфільтрації та ексудативних явищ протягом всього часу експерименту. Динаміка змін в легенях частини експериментальних тварин розвивається зі зміною запально-репаративних реакцій в бік фіброзу органів в тому випадку, якщо для лікування використовують парентеральне введення антибіотика і метод замісної сурфактантної терапії. Використання в лікувальній стратегії лише антибіотика зумовлює повільну і не повну зміну деструктивно-запальних і регенераторних змін до 6 діб експерименту.

Ключевые слова: сурфактант легких, синдром острого легочного повреждения, лечение, морфология.

Пневмофиброз, как частый исход заболеваний легких, приводит к снижению легочного комплайенса и газообмена в легких [1], а исход в фибрирование легких и формирование «дыхательных хроников» происходит у большей части всех пациентов, прошедших респираторную поддержку [2, 3]. Существует множество заболеваний и причин, приводящих к пневмофиброзу. Среди основных причин рассматривают инфекции, лекарственные воздействия и заболевания, протекающие с синдромом эндогенной интоксикации (ССВО) [4-10]. Любая патология, которая сопровождается ССВО, может осложниться развитием у больного острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [11, 12].

Стремительное развитие клинической картины, патоморфологических изменений и высокая летальность при синдроме острого повреждения легких постоянно притягивают к себе внимание ученых, однако проблема лечения ОРДС и теперь далека от успешного решения [13, 14].

Обычным патоморфологическим проявлением ОРДС является диффузное альвеолярное повреждение (ДАП). Проявления ДАП связаны с развитием

острого повреждения компонентов аэрогематического барьера с быстрым переходом (36-48 часов) в фибропролиферативный процесс. После фазы организации, в некоторых случаях может произойти разрешение с полным рассасыванием экссудата, в то время как в остальных случаях развивается архитектурная перестройка легких с развитием прогрессирующей респираторной недостаточности [15]. Существуют исследования, согласно которым стромальные ткани, оказывают мощный и функциональный контроль над эпителиальной пролиферацией и дифференцировкой в течение ОРДС, что привлекло внимание тех исследователей, кто занимается поиском новых методов лечения [16]. Одним из современных направлений лечения ОРДС является заместительная сурфактантная терапия (ЗСТ) [17, 18]. Понимание механизмов, лежащих в основе развития фиброза легких, позволит усовершенствовать способы лечения хронической легочной патологии [19, 20].

Цель исследования: охарактеризовать морфологические изменения в легких в динамике экспериментального острого респираторного дистресс-синдрома под влиянием различных стратегий лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальную модель ОРДС создавали путем внутритрахеального введения белым нелинейным крысам взвеси *Stafilococcus aureus* 0,5 мл. 27 животных случайным образом были разделены на 3 равные группы. В первой группе лечение осуществляли внутритрахеальным введением препарата «Сузакрин» на 2 и 5 сутки эксперимента в дозировке согласно инструкции к препарату, ежедневно внутримышечно вводили Ампициллин из расчета 1000 мг/кг массы тела. Животным второй группы (n = 9) ежедневно внутримышечно вводили Ампициллин из расчета 1000 мг/кг массы тела. Животных контрольной группы (n = 9) оставили без лечения. Забой животных во всех группах производили на 1-е, 3-и и 6-е сутки эксперимента путем введения их в глубокий тиопенталовый наркоз и декапитации. Гистологические парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Просматривали и фотографировали при помощи оптического микроскопа Olympus CX-41, цифровой фотокамеры Olympus C5050Z, программного обеспечения DP-Soft 3.1. Для электронной микроскопии использовали электронные микроскопы ПЭМ – 100 (г. Сумы) и JEM 1010 (JEOL).

Все манипуляции с животными проводили в соответствии с национальными «Общими этическими

принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001), которые согласовываются с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первые сутки патоморфологические изменения в легких животных всех групп оказались идентичными. Наблюдало утолщение межальвеолярных перегородок за счет интерстициального отека и инфильтрации, сочетание внутриальвеолярного отека и внутриальвеолярных геморрагий. В альвеолах обнаруживались макрофаги, отечная жидкость, фибрин. В субплевральных областях зачастую выявляли дис- и ателектазы.

При электронно-микроскопическом исследовании в легких животных всех групп на первые сутки эксперимента обнаруживаются изменения, свидетельствующие об интрацеллюлярном отеке эндотелиоцитов, альвеолоцитов 1 и 2 типов. Базальные мембраны в некоторых отделах теряют четкость своих контуров, разрыхляются, на электронномикроскопических изображениях выглядят разволокненными, дезорганизованными, имеют неравномерную и низкую электронную плотность. В некоторых участках базальная мембрана теряет очертание линии и становится дисперсной (Рис. 1.).

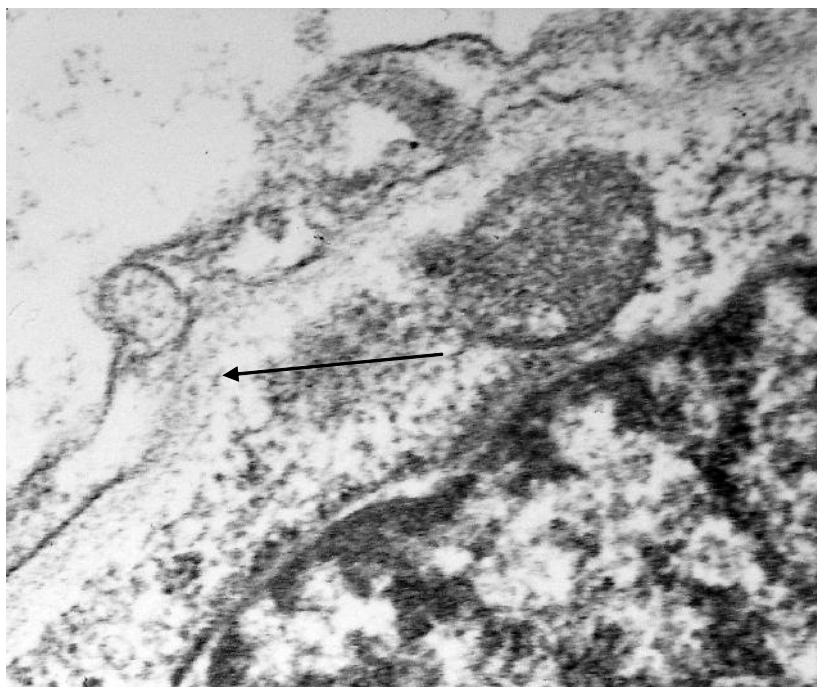


Рис. 1. Электронная микрофотография (фрагмент). Структура базальной мембраны становится пылевидной (стрелка). Ув. 24000.

В легких животных 1 группы на третьи сутки микроскопически выявлялись дис- и ателектазы, очаги острого вздутия. Выражен внутриальвеолярный и интерстициальный отек. Базальная мембрана утрачивает четкость своих контуров, имеет различную толщину и различную электронную плотность, зна-

чительно утолщается за счет образования коллагеновых волокон. На некоторых участках базальная мембрана расщепляется коллагеновыми отложениями на две пластинки. Основное вещество базальной мембраны имеет неравномерную электронную плотность, порой довольно низкую (Рис. 2.).

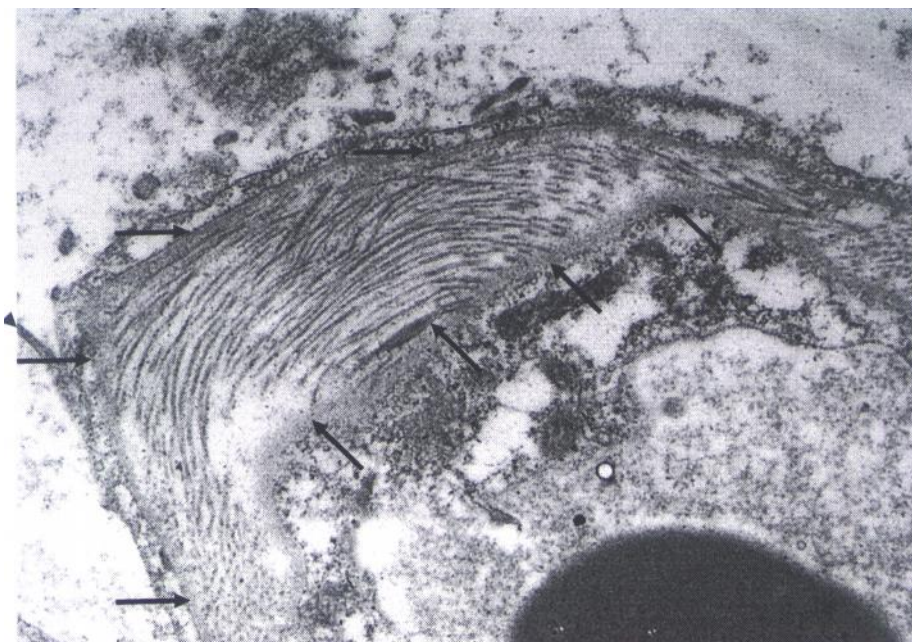


Рис. 2. Электронная микрофотография. Расщепление базальной мембраны коллагеновыми отложениями (стрелки). Ув. 15000.

В непосредственном контакте с альвеолярным эпителием обнаруживаются миофибробласты (Рис. 3.). Альвеолярный эпителий и клетки эндотелия капилляров обнаруживают признаки деструкции. Субэпителиальный отек обуславливает формирование гигантских подэпителиальных полостей.

В непосредственном контакте с альвеолярным эпителием обнаруживаются миофибробласты (Рис. 3.). Альвеолярный эпителий и клетки эндотелия капилляров обнаруживают признаки деструкции. Субэпителиальный отек обуславливает формирование гигантских подэпителиальных полостей.

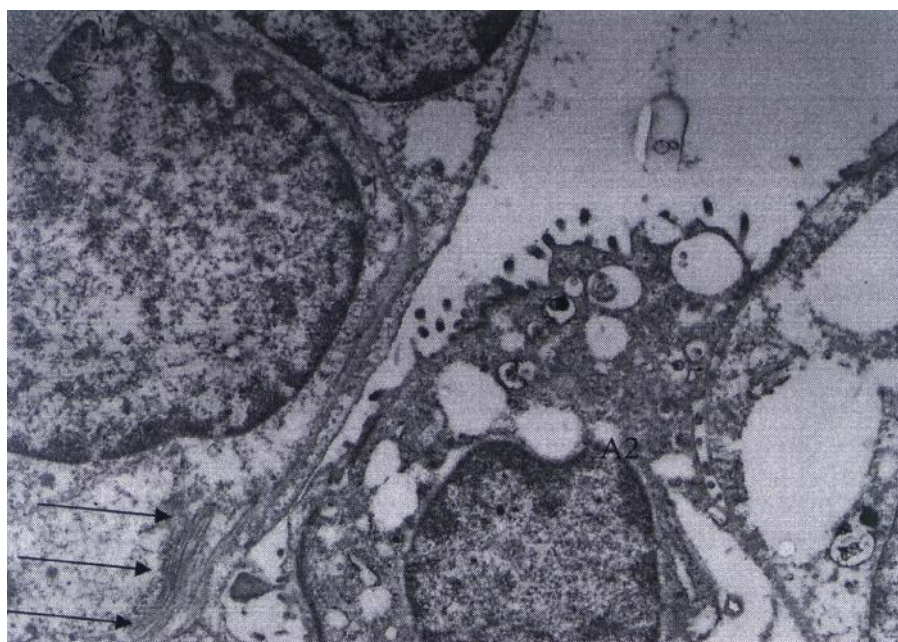


Рис. 3. Электронная микрофотография. Сократительные волокна в цитоплазме миофибробласта (стрелки), тесно контактирующего с альвеолоцитом 1 типа. В интерстиции - участки формирования коллагеновых волокон (обведено пунктиром). Альвеолоцит 2 типа (A2). Ув. 6000.

На шестые сутки в 1 группе у двух животных степень отека и воспалительной инфильтрации снижается, гемorragии носят очаговый характер. Однако у 1 животного данной экспериментальной группы обнаруживаются очаги распространенных внутриальвеолярных гемorragий и гемorragическое пропитывание интерстиция, выраженный внутриальвеоляр-

ный и интерстициальный отек. Степень и характер ультрамикроскопических изменений в легочной ткани животных 1 группы на шестые сутки эксперимента также оказались достаточно разнообразными. В основном они оказались связанными с процессами репарации и вентиляционными нарушениями. В двух экспериментальных наблюдениях ультраструктура

аэрогематического барьера мало изменена, альвеолярный эпителий и эндотелициты проявляют признаки незначительного повреждения, отмечается низкая сте-

пень воспалительных и деструктивных процессов, но при этом базальная мембрана утолщена за счет коллагенизации и слабого межклеточного отека (Рис. 4).

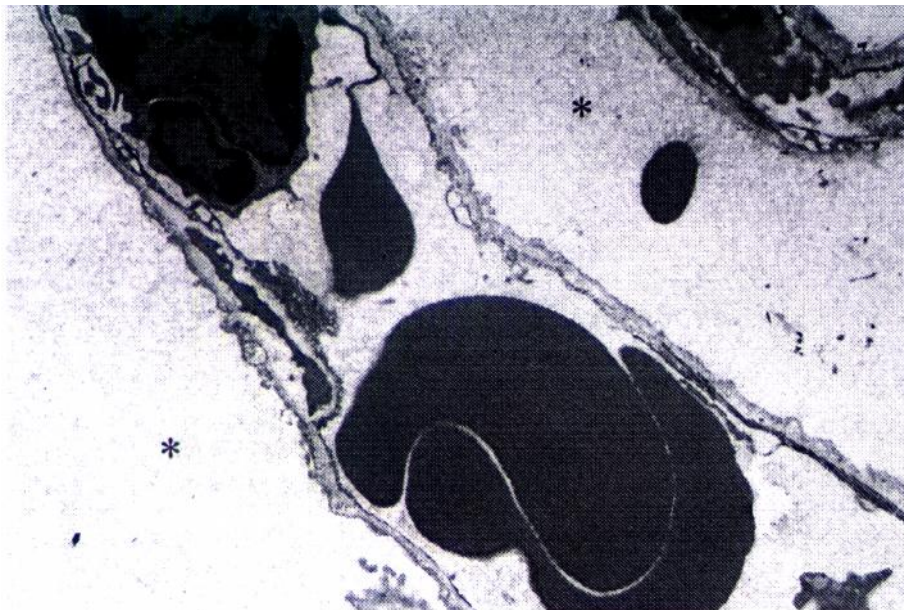


Рис. 4. Электронная микрофотография. Ультраструктура аэрогематического барьера мало изменена. Просвет альвеолы (звездочка). Ув. 6000.

В одном наблюдении активность воспалительно-деструктивных изменений высока, в межальвеолярных перегородках часто удается обнаружить довольно крупные конгломераты коллагеновых волокон и молодых клеток фибробластического дифферона (Рис. 5.). Клеточные элементы и коллагенизированный интерстиций проявляют признаки дистрофически-дегенеративных

изменений в виде очагов просветлений цитоплазмы и формирования различного размера вакуолей, очагов просветлений в основном веществе соединительной ткани. Это резко нарушает стромально-паренхиматозные соотношения между компонентами аэрогематического барьера, порой затрудняя при этом морфологическую идентификацию его составляющих (Рис. 5.).

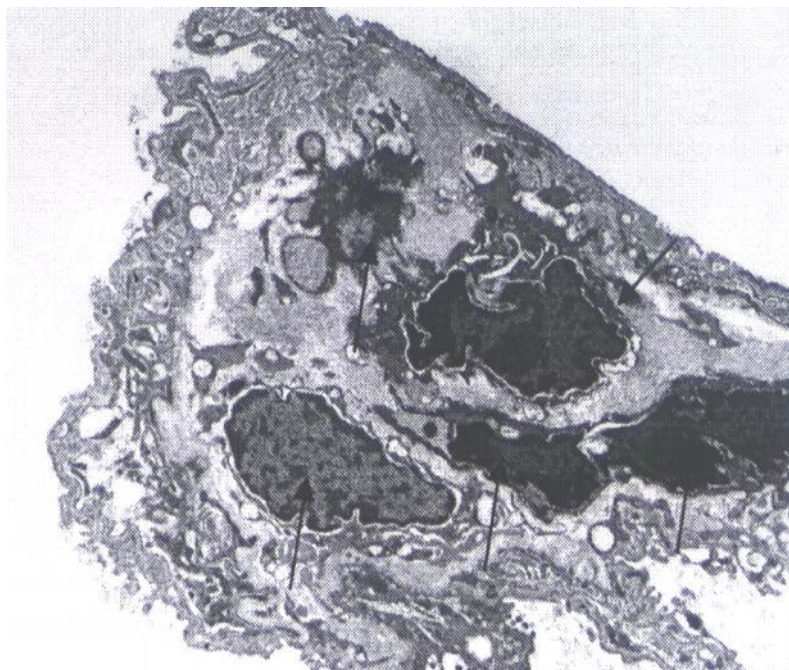


Рис. 5. Электронная микрофотография. Молодые клетки фибробластического дифферона (стрелки). Ув. 3000.

На третьи сутки в легких животных 2 группы сохраняются признаки выраженного интерстициального отека, распространенные ателектазы, нейтрофильная инфильтрация, внутриальвеолярный отек, внутриальвеолярные геморрагии и фибрин. Наблюдается пролиферация альвеолярного эпителия в свободных от экссудата альвеолах. Деструктивные изменения альвеолоцитов и эндотелиоцитов порой выражены настолько сильно, что в цитоплазме этих клеток вообще не удастся идентифицировать ультра-

структурные компоненты. Фибриллярные отложения в интерстиции легких сравнимы с подобными изменениями в экспериментальной группе 1, однако интенсивность их отложений не столь значительна. На шестые сутки эксперимента кровоизлияния, внутриальвеолярный и интерстициальный отек, лейкоцитарная инфильтрация нарастают во всех наблюдениях. Альвеолярный эпителий некротизирован. В межальвеолярных перегородках обнаруживаются коллагеновые волокна и клетки фибробластического

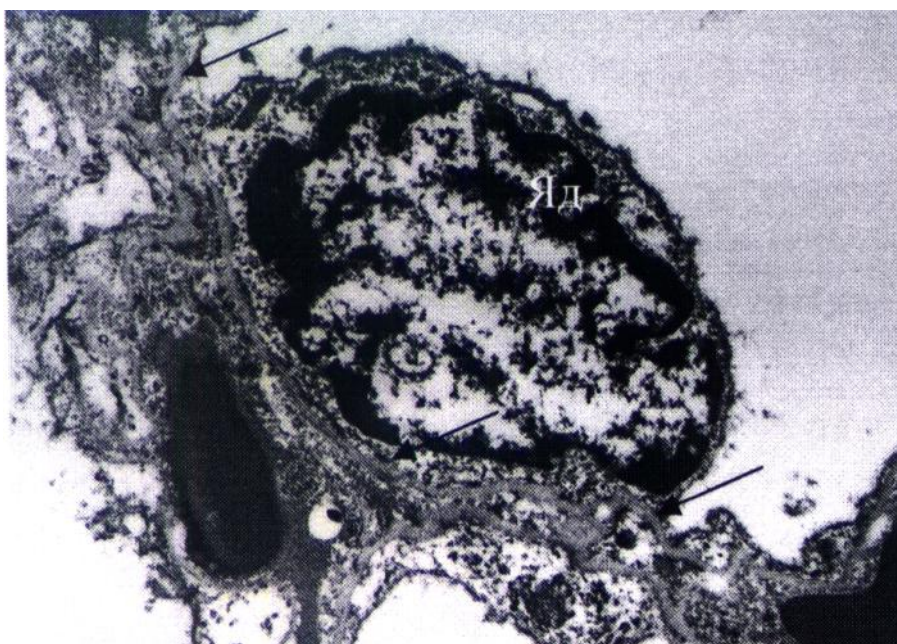


Рис. 6. Электронная микрофотография. Альвеолоцит 1 типа с признаками деструкции. Ядро (Яд), базальная мембрана (стрелки). Ув. 10000.

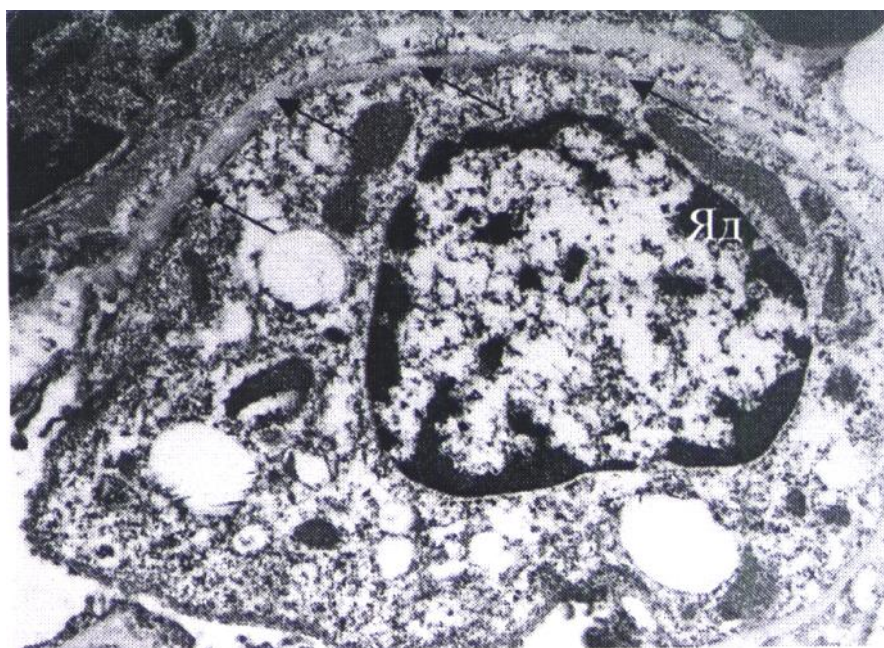


Рис. 7. Электронная микрофотография. Альвеолоцит 2 типа с признаками деструкции. Ядро (Яд), базальная мембрана (стрелки). Ув. 10000.

ряда. Цитоплазма этих клеток неоднородной средней электронной плотности за счет множества мелких глобулярных фрагментов и очагов просветлений, что не позволяет судить об активности протекающих в них синтетических процессов.

Изменения в легких контрольной группы к третьим суткам эксперимента характеризовались развитием картины мелкоочаговой гнойной пневмонии с выраженным геморрагическим компонентом (Рис. 6, 7).

Наряду с эритроцитами в большинстве альвеол визуализировался нейтрофильно-макрофагальный экссудат и фибриновые массы. Ультраструктура аэрогематического барьера характеризовалась прогрессирующими деструктивными изменениями. Фибриллярных структур в базальной мембране в этот срок определить не удается.

Анализируя результаты можно утверждать, что в эксперименте удалось воспроизвести модель развития синдрома острого легочного повреждения. В течение первых суток эксперимента в легких животных всех экспериментальных групп наблюдали развитие отека межальвеолярных перегородок, экссудацию и дистрофически-деструктивные изменения в респираторном эпителии. Исходя из результатов исследования, репарация и коллагенизация аэрогематического барьера легких наступает раньше при одновременном использовании антибиотика и метода заместительной сурфактантной терапии. Состояние респираторного эпителия и сурфактант-синтезирующих клеток свидетельствуют об активном газообмене в данной группе животных. При использовании в лечебной стратегии только инъекционного введения антибиотика регенерация альвеолярного эпителия наблюдалась лишь к 6 суткам, но морфофункциональное состояние всех структур аэрогематического барьера указывает на продолжение и прогрессирование легочного повреждения.

ВЫВОДЫ

1. В экспериментальной модели синдрома острого легочного повреждения изменения в легких животных характеризуются прогрессированием некротически-деструктивных процессов с нарастанием воспалительной инфильтрации и экссудативных явлений на протяжении всего времени эксперимента.

2. Динамика изменений в легких части экспериментальных животных развивается со сменой воспалительно-репаративных реакций в сторону фиброза органов в том случае, если для лечения используют парентеральное введение антибиотика и метод заместительной сурфактантной терапии.

3. Использование в лечебной стратегии только антибиотика предопределяет медленную и не полную смену деструктивно-воспалительных и регенераторных изменений к 6 суткам эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stapleton R. D. Causes and Timing of Death in

Patients With ARDS/ R. D. Stapleton, B. M. Wang, L. D. Hudson [et al.]// -Chest. -2005. -№128. -P. 525-532.

2. Плотников Г.П. Лечение вирусно-бактериальных пневмоний у беременных и родильниц в период сезонного гриппа 2009 г. (многоцентровое исследование)/ Г.П. Плотников, Д.Л. Шукевич, Ю.А. Чурляев [и др.]// Общая реаниматология. - 2010. - Том 6. -№ 5. -С. 5-10.

3. Orme J. Jr. Pulmonary function and health-related quality of life in survivors of acute respiratory distress syndrome/ J.Jr. Orme, J.S. Romney, R.O. Hopkins [et al.] /Am. J. Respir. Crit. Care. Med. -2003. -№167. -P. 690-694.

4. Алексеенко А.А. Морфологические изменения структур аэрогематического барьера респираторного отдела легких при хронической печеночной недостаточности [Электронный ресурс] / Алексеенко А.А., Корнилов Б. Е., Чекан С.Н., Громов Э.Е // Морфология. -2007. -Том I, -№1. — Режим доступа до журн.: http://www.morphology.dp.ua/_pub/MORPHO-2007-01-01/07aaahpn.pdf.

5. Imokawa S. Methotrexate pneumonitis: review of the literature and histopathological findings in nine patients / S. Imokawa, T.V. Colby, K.O. Leslie, [et al.]// Eur. Respir. J. -2000. -№15. -P. 373-381.

6. Muller N. L. Diagnosis and management of drug-associated interstitial lung disease / N. L. Muller, D.A. White, H. Jiang, A. Gemma // Br. J. Cancer. -2004. -№91(S2). -P. 24-30.

7. Camus P. Interstitial Lung Disease Induced by Drugs and Radiation/ P. Camus, A. Fanton, P. Bonniaud., [et al.]// Respiration. -2004. -№71. -P. 301-326.

8. Интерстициальные болезни легких: Практическое руководство/[Коган Е. А., Корнеев Б.М., Попова Е.Н., Фомин В.В. и др.]; под ред. Н.А. Мухина. -М.: Литтерра. - 2007. -432 с.

9. Barrios R.J. Hypersensitivity pneumonitis: histopathology/ R.J. Barrios// Arch. Pathol. Lab. Med. - 2008. - №132(2). -P. 199-203.

10. Shieh W.J. 2009 pandemic influenza A (H1N1): pathology and pathogenesis of 100 fatal cases in the United States/ W. J. Shieh, D. M. Blau, A. M. Denison [et al.]// Am. J. Pathol. -2010. -№ 177(1). -P. 13-14.

11. Глумчер Ф.С. Острый респираторный дистресс-синдром: определение, патогенез, терапия / Ф.С. Глумчер // Мистецтво лікування. - 2004. - № 9. - С. 30-35.

12. Межирова Н.М. Патологические и диагностические аспекты синдрома системного воспалительного ответа / Н.М. Межирова, В.В. Данилова, С.С. Овчаренко // Медицина неотложных состояний. -2011. -№1-2. -С. 32-33.

13. Рекалова Е.М. Поражения легких в период пандемии свиного гриппа А(H1N1) 2009-2010 гг. / Е. М. Рекалова // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. -2010. -№3. -С. 42-48.

14. Tobin M. J. Critical Care Medicine in AJRCCM 2003/ M.J. Tobin // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. -2004. -Vol 169. -P. 239-253.

15. Mary B.V. The Pathologist's Approach to Acute

Lung Injury/ B.B. Mary // Archives of Pathology & Laboratory Medicine. -2010. -Vol. 134. -N. 5. -P. 719-727.

16. Sabater J. Effects of an omega-3 fatty acid-enriched lipid emulsion on eicosanoid synthesis in acute respiratory distress syndrome (ARDS): A prospective, randomized, double-blind, parallel group study/ J. Sabater, J. R. Masclans, J. Sacanell [et al.] // Nutrition & Metabolism (London). -2011. -V. 8. -P. 8-22.

17. Gunther A. Bronchoscopic administration of bovine natural surfactant in patients with severe ARDS and Septic Shock: impact on Biophysical and Biochemical surfactant Properties/ A. Gunther, R. Schmidt, D. Walmrath, [et al.] // Applied cardiopulmonary pathophysiology. -2000. -Vol. 9. -№3. -P. 218-221.

18. Шлапак І.П. Новітні тенденції в лікуванні синдрому гострого легеневого пошкодження/ І.П. Шлапак, І.І. Тітов // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. - №1 (д). – С. 219.

19. Cox M. The selective $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist GTS-21 attenuates ventilator-induced inflammation and lung injury/ M. Cox, J.C. Pompe, M. Vaneker [et al.] // Critical Care. -2009. -№13. -P55.

20. Hegeman M.A. Systemic administration of E-selectin-directed dexamethasone liposomes attenuates pulmonary inflammation in a mouse model of ventilator-induced lung injury/ M.A. Hegeman, P.M. Cobelens, M.P. Hennis., [et al.] // Critical Care. - 2009. -№13. -P. 327.