

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

Патоморфологические изменения аэрогематического барьера при остром респираторном дистресс-синдроме в эксперименте

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

Ключевые слова: сурфактант легких, острый респираторный дистресс-синдром, лечение, морфология.

Изменения в легких нелинейных белых крыс, которым моделировали острый респираторный дистресс-синдром, при отсутствии терапии характеризуются прогрессированием деструктивно-некротических процессов с нарастанием экссудации и воспалительной инфильтрации в течение всех 6 суток эксперимента. Воспалительные реакции сменяются фиброзом при одновременном назначении антибактериальной и заместительной сурфактантной терапии. Использование только антибактериальной терапии приводит к пролонгированию деструктивно-воспалительного процесса и замедлению фиброза к 6 суткам эксперимента.

Патоморфологічні зміни аерогематичного бар'єра при гострому респіраторному дистрес-синдромі в експерименті

М.Ю. Новіков, Л.В. Тышкевич, К.Н. Джансыз

Зміни у легенях нелінійних білих щурів, яким моделювали гострий респіраторний дистрес-синдром, за відсутності лікування характеризуються прогресуванням деструктивно-некротичних процесів зі зростанням запальної інфільтрації та екссудативних явищ протягом усіх 6 діб експерименту. Запальні реакції змінюються фіброзом при одночасному застосуванні антибіотикотерапії та замісної сурфактантної терапії. Використання лише антибіотикотерапії зумовлює пролонгацію деструктивно-запального процесу та уповільнення фіброзу до 6 доби експерименту.

Ключові слова: сурфактант легень, гострий респіраторний дистрес-синдром, лікування, морфологія.**Патологія.** – 2012. – №1 (24). – С. 53–56

Morphologic changes of blood – gas barrier in acute respiratory distress syndrome in the experiment

N.Yu. Novikov, L.V. Tyshkevich, K.M. Dzhanysz

Changes in the lungs of nonlinear white rats with a modeled acute respiratory distress syndrome without any therapy are characterized by progression of destructive necrotic processes with increasing of exudation and inflammatory infiltration during all 6 days of experiment. Inflammatory reactions are replaced by fibrosis when simultaneous antibacterial and substitutive surfactant therapy is applied. Administration of only antibacterial therapy leads to prolongation of destructive inflammatory process and deceleration of fibrosis appearance by 6 day of experiment.

Key words: surfactant of the lungs, acute respiratory distress-syndrome, the treatment, the morphology.**Pathologia.** 2012; №1 (24): 53–56

Повышенный интерес к изучению критических состояний у человека связан с рядом нерешенных в этом направлении вопросов. Чаще остальных в сложный патогенез многих критических состояний вовлекается респираторная система. Как результат острого повреждения компонентов аэрогематического барьера возникает острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС). При этом прогрессирующая острая дыхательная недостаточность часто становится причиной смерти. Увеличение выживаемости больных ОРДС даже в доли процента признается большим достижением. Патоморфологические проявления ОРДС обычно быстро перерастают в фибропролиферативный процесс [1,2]. Выживание пациентов еще не обеспечивает им в дальнейшем полноценной жизни. В части случаев происходит достаточно полное структурно-функциональное восстановление респираторной паренхимы. В других случаях развивается архитектурная перестройка легких с развитием прогрессирующей дыхательной недостаточности [3–5]. Отдельными исследованиями установлено, что исход в фиброзирование легких и формирование «дыхательных хроников» происходит у большей части всех пациентов, прошедших респираторную поддержку [6,7].

Механизмы фиброзирования респираторного отдела сложны и недостаточно изучены. Существуют исследования, согласно которым стромальные ткани оказывают мощный и функциональный контроль над эпителиальной пролиферацией и дифференцировкой в течение ОРДС [8–10]. Другие авторы указывают на существенную роль цитокинов в индукции просклерозирующего потенциала альвеолярного эпителия [11]. Одним из современных направлений лечения ОРДС является заместительная сурфактантная терапия (ЗСТ), влияние которой на процессы восстановления аэрогематического барьера изучено мало. Понимание механизмов, лежащих в основе развития фиброза легких, позволит усовершенствовать способы лечения ОРДС и прочей легочной патологии [12,13].

Цель работы

Охарактеризовать морфологические изменения в респираторном отделе легких в динамике экспериментального острого респираторного дистресс-синдрома под влиянием различных стратегий лечения.

Материалы и методы исследования

Экспериментальную модель ОРДС создавали путем интритрахеального введения белым нелинейным

крысам 0,5 мл взвеси бактерий *Staphylococcus aureus* в изотоническом растворе натрия хлорида в концентрации 10^9 клеток в 1 мл (эталонный штамм 209Р, получен из музея патогенных бактерий ГИСК им. Л.А. Тарасевича). 27 животных случайным образом 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 ежедневно внутримышечно вводили ампициллин из расчета 1000 мг/кг массы тела. Животных контрольной группы оставили без лечения. Забой животных во всех группах производили на 1, 3 и 6 сутки эксперимента путем введения их в глубокий тиопенталовый наркоз и декапитации. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Использовали оптический микроскоп Olympus CX-41, цифровую фотокамеру Olympus C5050Z, программное обеспечение 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, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

Результаты и их обсуждение

На первые сутки патоморфологические изменения в легких животных всех групп оказались идентичными. Наблюдали утолщение межальвеолярных перегородок за счет интерстициального отека и инфильтрации, сочетание внутриальвеолярного отека и внутриальвеолярных геморрагий. В альвеолах обнаруживали макрофаги, отечную жидкость, фибрин. В субплевральных областях зачастую выявляли дис- и ателектазы. Обнаруживается интрацеллюлярный отек 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).

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 контуров, имеет различную толщину и различную электронную плотность, значительно утолщается за счет образования коллагеновых волокон. На некоторых участках базальная мембрана расщепляется коллагеновыми отложениями на 2 пластинки. Основное вещество базальной мембраны имеет неравномерную электронную плотность, порой довольно низкую (рис. 2). В непосредственном контакте с альвеолярным эпителием выявляются миофибробласты (рис. 3). Альвеолярный

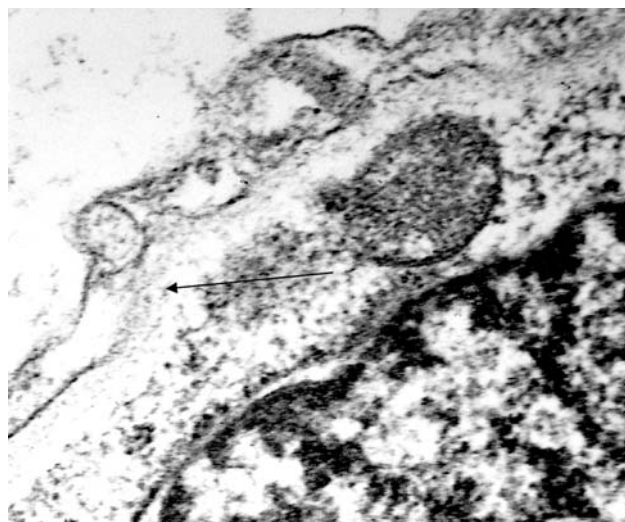


Рис. 1. Электронная микрофотография (фрагмент). Структура базальной мембраны становится пылевидной (стрелка). Ув. 24000.

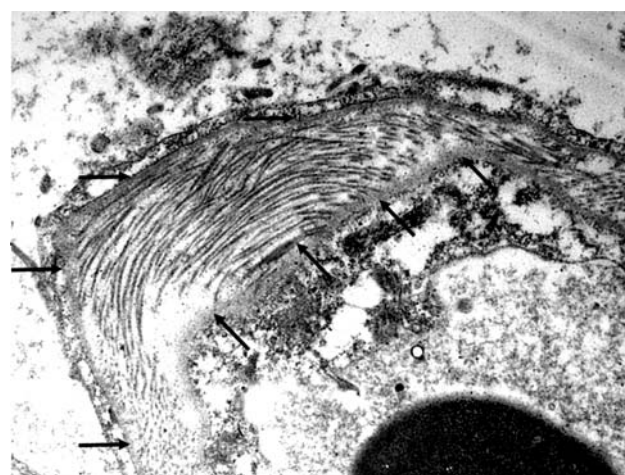


Рис. 2. Электронная микрофотография. Расщепление базальной мембраны коллагеновыми отложениями (стрелки). Ув. 15000.

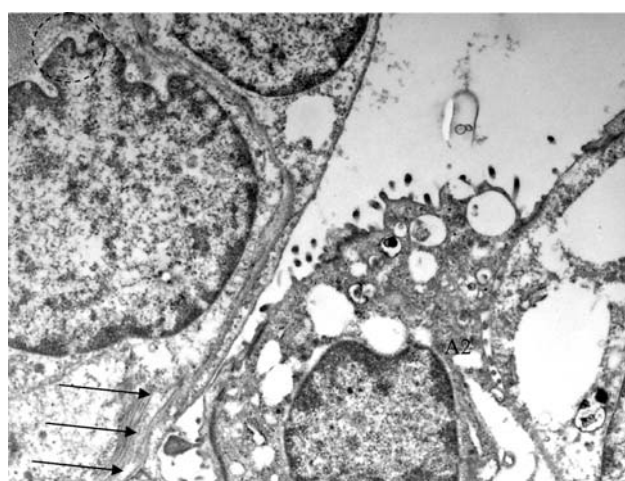


Рис. 3. Электронная микрофотография. Сократительные волокна в цитоплазме миофибробласта (стрелки), тесно контактирующего с альвеолоцитом 1 типа. В интерстиции – участки формирования коллагеновых волокон (обведено пунктиром). Альвеолоцит 2 типа (A2). Ув. 6000.

эпителий и клетки эндотелия капилляров обнаруживают признаки деструкции. Субэпителиальный отек обуславливает формирование гигантских подэпителиальных полостей.

На шестые сутки в 1 группе у 2 животных степень отека и воспалительной инфильтрации снижается, геморагии носят очаговый характер.

У 1 животного данной экспериментальной группы обнаруживаются очаги распространенных внутриальвеолярных геморагий и геморрагическое пропитывание интерстиция, выраженный внутриальвеолярный и интерстициальный отек. Ультрамикроскопические изменения в легочной ткани животных 1 группы на шестые сутки эксперимента оказались связаны с процессами репарации и вентиляционными нарушениями. В двух экспериментальных наблюдениях ультраструктура аэрогематического барьера мало изменена, альвеолярный эпителий и эндотелиоциты проявляют признаки незначительного повреждения, отмечается низкая степень воспалительных и деструктивных процессов, но при этом базальная мембрана утолщена за счет коллагенизации и слабого межуточного отека (рис. 4). 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 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).

На третьи сутки в легких животных 2 группы сохраняются признаки выраженного интерстициального отека, распространенные ателектазы, нейтрофильная инфильтрация, внутриальвеолярный отек, внутриальвеолярные геморагии и фибрин. Наблюдается пролиферация альвеолярного эпителия в свободных от экссудата альвеолах. Деструктивные изменения альвео-

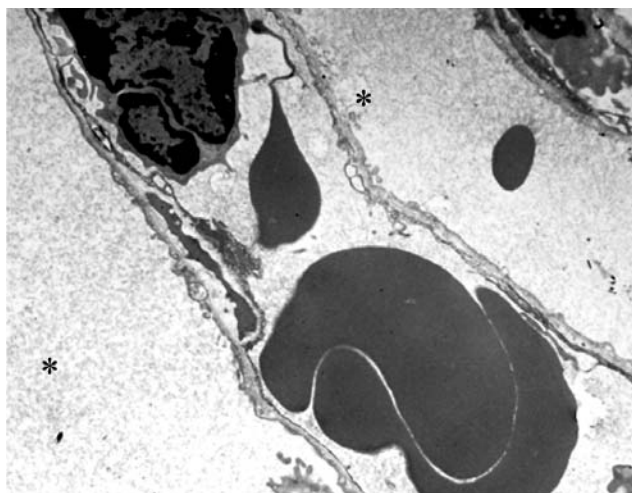


Рис. 4. Электронная микрофотография. Ультраструктура аэрогематического барьера мало изменена. Просвет альвеолы (звездочка). Ув. 6000.

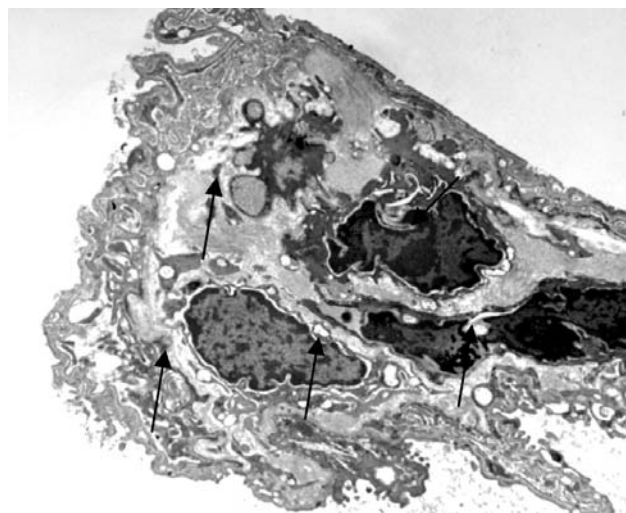


Рис. 5. Электронная микрофотография. Молодые клетки фибробластического дифферона (стрелки). Ув. 3000.

лоцитов и эндотелиоцитов порой выражены настолько сильно, что в цитоплазме этих клеток вообще не удается идентифицировать ультраструктурные 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 у животных 2 группы кровоизлияния, внутриальвеолярный и интерстициальный отек, лейкоцитарная инфильтрация нарастают во всех наблюдениях. Альвеолярный эпителий некротизирован. В межальвеолярных перегородках обнаруживаются коллагеновые волокна и клетки фибробластического ряда. Цитоплазма этих клеток неоднородной средней электронной плотности за счет множества мелких глобулярных фрагментов и очагов просветлений.

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

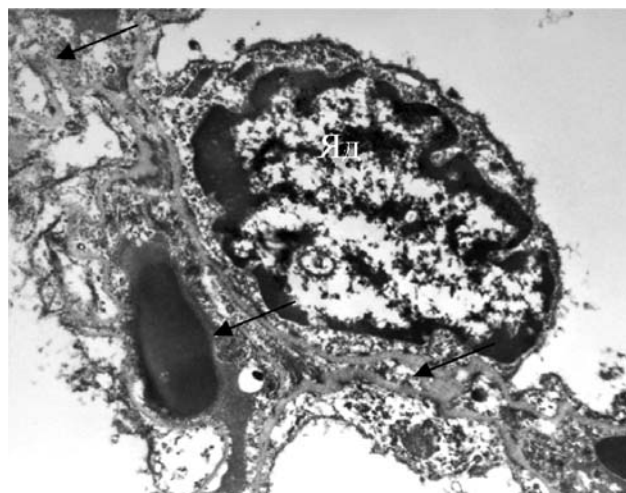


Рис. 6. Электронная микрофотография. Альвеолоцит 1 типа с признаками деструкции. Ядро (Яд), базальная мембрана (стрелки). Ув. 10000.

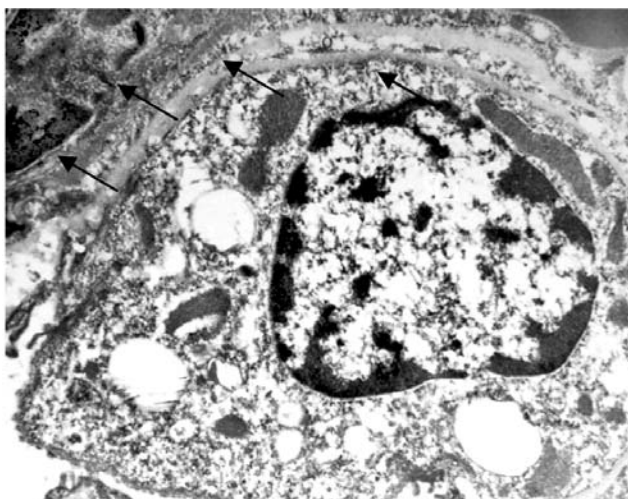


Рис. 7. Электронная микрофотография. Альвеолоцит 2 типа с признаками деструкции. Ядро (Яд), базальная мембрана (стрелки). Ув. 10000.

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 острого респираторного дистресс-синдрома. 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

В экспериментальной модели острого респираторного дистресс-синдрома изменения в легких крыс характеризуются прогрессированием некротически-деструктивных процессов с нарастанием воспалительной инфильтрации и экссудативных явлений на протяжении всего эксперимента.

При одновременном использовании в лечении парентерального введения антибиотика и заместительной

сурфактантной терапии некротически-деструктивные и воспалительные изменения в легких уменьшаются, уступая место фиброзу легких к 6 суткам эксперимента.

Использование для лечения только антибиотика предопределяет медленную и неполную смену деструктивно-воспалительных изменений в сторону фиброза в легких к 6 суткам.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения возможностей заместительной сурфактантной терапии в лечении острого респираторного дистресс-синдрома.

Список литературы

1. Глумчер Ф.С. Острый респираторный дистресс-синдром: определение, патогенез, терапия / Ф.С. Глумчер // Мисцество лікування. – 2004. – №9. – С. 30–35.
2. Межирова Н.М. Патофизиологические 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.
3. 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. Чуляев [и др.] // Общая реаниматология. – 2010. – Т. 6, №5. – С. 5–10.
4. 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
5. Рекалова Е.М. Поражения легких в период пандемии свиного гриппа А(Н1N1) 2009–2010 гг. / Е.М. Рекалова // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2010. – №3. – С. 42–48.
6. Mary B.B. The Pathologist's Approach to Acute Lung Injury/ B.B. Mary // Archives of Pathology & Laboratory Medicine. – 2010. – Vol. 134, №5. – P. 719–727.
7. 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.
8. 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.
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. Stevens T. Lung Vascular Cell Heterogeneity. Endothelium, Smooth Muscle, and Fibroblasts / Stevens T., Phan S., Frid M.G. et al. // The Proceedings of the American Thoracic Society. – 2008. – V. 5. – P. 783–791.
12. 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. – P. 55.
13. 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. Hennus., [et al.] // Critical Care. – 2009. – №13. – P. 327.

Сведения об авторах:

Новиков Н.Ю., к. мед. н., доцент, и.о. зав. каф. патологической анатомии с секционным курсом ГУ «КГМУ им. С.И. Георгиевского».

Тышкевич Л.В., к. мед. н., доцент каф. медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии ГУ «КГМУ им. С.И. Георгиевского».

Джансыз К.Н., к. мед. н., ассистент каф. хирургии №2 ГУ «КГМУ им. С.И. Георгиевского».

Адрес для переписки:

Новиков Николай Юльевич. 95006, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7, каф. пат. анатомии ГУ «КГМУ им. С.И. Георгиевского». Тел.: (0652) 22 23 13. E-mail: tttravell@yandex.ru

Надійшла в редакцію 20.12.2011 р.