

©В. О. Бєський¹, З. М. Небесна², М. І. Марущак², Л. А. Грищук²Тернопільська університетська лікарня¹ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”²**СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ КОМПОНЕНТІВ АЕРОГЕМАТИЧНОГО БАР'ЄРА РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ У РАННІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ХЛОРИДНОЮ КИСЛОТОЮ**

Резюме. Субмікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень через 2 і 6 год після експериментального гострого ураження легень хлоридною кислотою встановили пристосувально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів аерогематичного бар'єра.

Мета дослідження – вивчити субмікроскопічні зміни компонентів аерогематичного бар'єра легень у ранні терміни після гострого ураження легень.

Матеріали і методи. Досліди були проведені на 30 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200–220 г. Тварин поділили на 3 групи: перша – контрольна група, друга – ураження хлоридною кислотою тривалістю 2 год, третя – ураження хлоридною кислотою тривалістю 6 год.

Результати досліджень та їх обговорення. В експерименті на статевозрілих білих щурах проведено дослідження субмікроскопічного стану компонентів аерогематичного бар'єра в ранні терміни після гострого ураження легень. Встановлено, що на 2 год експерименту відбуваються пристосувально-компенсаторні та початкові деструктивні зміни альвеолярного епітелію та стінки гемокапілярів. Цитоплазма респіраторних епітеліоцитів у цей термін досліду була вогнищево набрякла та просвітлена, органи деструктивно змінені. Для альвеолоцитів I типу характерним був значний набряк і просвітлення цитоплазми. В цей термін досліду виявлялась підвищена кількість активно фагоцитуючих макрофагів, які мали округлу форму, чітко контуровані мембрани каріолеми, визначилися їх інвагінації, а в каріоплазмі переважав еухроматин. В альвеолоцитах II типу через 6 год встановлено прогресування деструктивних змін. Для них характерні гіпертрофовані ядра з глибокими інвагінаціями каріолеми, в якій виявлялося мало ядерних пор, локально розширеним перинуклеарним простором. У набряклій цитоплазмі виявляються деструктивно змінені органи.

Висновки. Гостре ураження легень призводить до порушення ультраструктурної організації аерогематичного бар'єра. Встановлені пристосувально-компенсаторні процеси та ознаки деструктивних змін альвеолярного епітелію та стінки гемокапілярів, що призводить до погіршення газообмінних процесів у легенях.

Ключові слова: аерогематичний бар'єр; ультраструктурні зміни; гостре ураження легень.

ВСТУП Гостре ураження легень (ГУЛ) як складова гострого респіраторного дистрес-синдрому істотно впливає на захворюваність у всьому світі, в тому числі й в Україні. Сукупність клінічних критеріїв, які визначають ГУЛ (гострий початок, двосторонні легеневі інфільтрати з гіпоксемією без ознак гідростатичного набряку легень), зумовлюють високу частоту загальної смертності [1–3]. Механізм розвитку і прогресування ГУЛ пояснюють ушкодженням як судинного ендотелію, так і альвеолярного епітелію. Останні досягнення в розумінні патофізіології виявили кілька біологічних маркерів, що пов'язані з гіршими клінічними результатами [4].

Гостре ушкодження легень є розладом гострого запалення, що призводить до порушення ендотелію легень і епітеліальні бар'єри. Альвеолярно-капілярна мембрана складається з мікросудин ендотелію, інтерстиції й альвеолярного епітелію. Клітинні характеристики ГУЛ включають втрату цілості альвеолярно-капілярної мембрани, надмірну трансепітеліальну міграцію нейтрофілів і вивільнення прозапальних медіаторів, цитотоксичних біомаркерів, що знаходяться на епітелії й ендотелії та беруть участь у запаленні й коагуляції, прогнозують захворюваність і смертність при ГУЛ [1–4].

Мікроваскулярне ушкодження ендотелію призводить до збільшення проникності капілярів. Ця зміна проникності дозволяє відтоку рідини, багатою білком, в периферіальні інтерстиції, перетинаючи епітеліальний бар'єр у дистальних повітряних просторах легень [5].

Трансепітеліальна міграція нейтрофілів є важливою особливістю гострого ушкодження легень, тому що нейтрофіли спричиняють запалення. Надмірна та/або тривала активація нейтрофілів сприяє руйнуванню базальної мембрани і підвищенню проникності альвеолярно-капілярного бар'єра. Відбувається перенастроювання групи

нейтрофілів у результаті механічного розширення парацелюлярних нейтрофільних міграційних шляхів [6–8].

В експериментальній моделі синдрому гострого легеневого ушкодження зміни в легенях тварин характеризуються прогресуванням некротичних-деструктивних процесів із наростанням запальної інфільтрації та ексудативних явищ протягом усього часу експерименту. Динаміка змін у легенях в частини експериментальних тварин розвивається зі зміною запально-репаративних реакцій у бік фіброзу органів у 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. 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 ексудативних явищ протягом усіх 6 діб експерименту [9].

Метою дослідження було вивчення субмікроскопічних змін компонентів аерогематичного бар'єра легень щурів у ранні терміни після гострого ураження легень.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди провели на 30 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”. При проведенні досліджень дотримувалися положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [10].

Тварин поділили на 3 групи: перша – контрольна група (n=6), друга – ураження хлоридною кислотою тривалістю 2 год (n=12), третя – ураження хлоридною кис-

лотою тривалістю 6 год (n=12). Щурів анестезували внутрішньочеревним введенням тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Вентральну сторону шиї обробляли хлорексидином і робили 0,5 см серединний розріз для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизонтально під кутом 45°, інсуліновим шприцом вводили в трахею HCl, рН 1,2 в дозі 1,0 мл/кг на вдиху. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в дозі 1,0 мл/кг. Через 2 і 6 год проводили еутаназію щурів методом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин.

Об'єктом дослідження були легені. Для електронно-мікроскопічних досліджень забирали шматочки респіраторного відділу легень, фіксували їх у 2,5 % розчині глютаральдегіду, постфіксували 1 % розчином тетраокису осмію на фосфатному буфері. Подальшу обробку проводили згідно з загальноприйнятою методикою [1].

Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі УМПТ-7, контрастували уранілацетатом, цитратом свинцю відповідно до методу Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати субмікроскопічних досліджень респіраторного відділу легень через 2 год після експериментального гострого ураження їх хлоридною кислотою показали пристосувально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів аерогематичного бар'єра. Гемокапіляри в складі стінки альвеол мають розширені кровонаповнені просвіти, виявляється утворення стазів. У просвітленій цитоплазмі ендотеліоцитів спостерігалися округлої форми, набряклі мітохондрії, із гомогенним матриксом та дисккомплексованими кристами. У зоні органел були наявні нерівномірно потовщені каналці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі. Периферійні цитоплазматичні ділянки ендотеліальних клітин були просвітлені, в них наявна менша кількість мікропіноцитозних пухирців. Їх ядра мали видовжену форму з переважанням гетерохроматину, спостерігалися глибокі інвагінації каріолеми. Периферичні цитоплазматичні частини ендотеліоцитів містили небагато мікропіноцитозних пухирців (рис. 1).

Цитоплазма респіраторних епітеліоцитів у цей термін досліду була вогнищево набряклою та просвітленою, органели деструктивно змінені. Для альвеолоцитів I типу характерним був значний набряк і просвітлення цитоплазми. У подовгастих ядрах виявлялися інвагінації каріолеми та нечіткі перинуклеарний простір. В периферичних цитоплазматичних частинах клітин були потовщені ділянки й ушкодження на окремих ділянках люменальної плазмолемі. Базальна мембрана в складі аерогематичного бар'єра виглядала нерівномірно потовщеною, виявлялися значно витончені та нечіткі її ділянки.

Для секреторних епітеліоцитів характерними були ознаки набряку та вакуолізації. Округло-овальні ядра мали неглибокі інвагінації нуклеолеми, в каріоплазмі переважав маргінально розміщений гетерохроматин. У цитоплазмі спостерігалися набряклі мітохондрії з ушкодженими кристами. Ендоплазматична сітка представлена розширеними каналцями та великими вакуолями. Частина цистерн комплексу Гольджі потовщена. Цитоплазма клітин містила невелику кількість рибосом та полісом, виявлялися деструктивно змінені пластинчасті тільця, що розміщувалися під плазмолемою. Осміофільний вміст ламелярних тільця був невпорядкованим. Однак наявні поодинокі, молоді, незрілі секреторні тільця,

в яких внутрішній вміст виглядав гомогенно невпорядкованим. На апікальній поверхні альвеолоцитів II типу виявлялися невеликі за розмірами мікворосинки (рис. 2).

У цей термін досліду була підвищена кількість активно фагоцитуючих макрофагів, які мали округлу форму, чітко контуровані мембрани каріолеми, визначилися їх інвагінації, а в каріоплазмі переважав еухроматин. У цитоплазмі спостерігали добре розвинені органели загального призначення, та багато первинних лізосом і вторинних – великих осміофільних фагосом. Плазмолема клітин мала великі, протяжні випинання, мікроросинки та інвагінації.

Результати ультраструктурних досліджень респіраторного відділу легень через 2 год після експериментального гострого ураження легень показали, що більшість гемокапілярів залишається кровонаповненими з ознаками сладж-ефекту та тромбоутворення. В осміофільних ядрах ендотеліальних клітин наявні інвагінації нуклеолеми та вогнищево розширений перинуклеарний простір, каріоплазма містить переважно гетерохроматин, який розташований

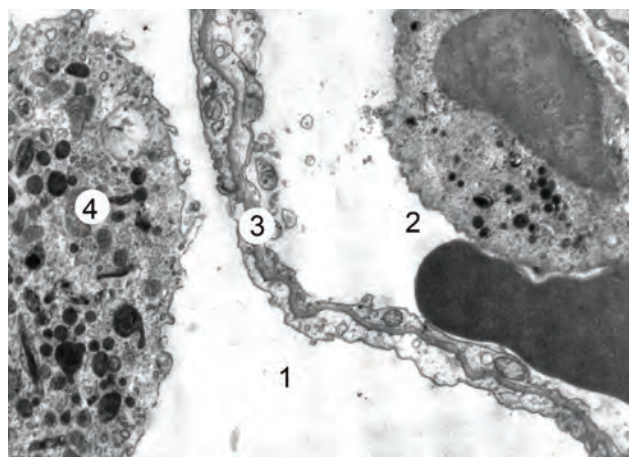


Рис. 1. Ультраструктурні зміни стінки альвеоли та гемокапіляра після 2 год експериментального гострого ураження легень. Просвіт альвеоли (1), просвіт гемокапіляра з форменими елементами крові (2), змінені компоненти аерогематичного бар'єра (3), фрагмент альвеолярного макрофага (4). x 9000.

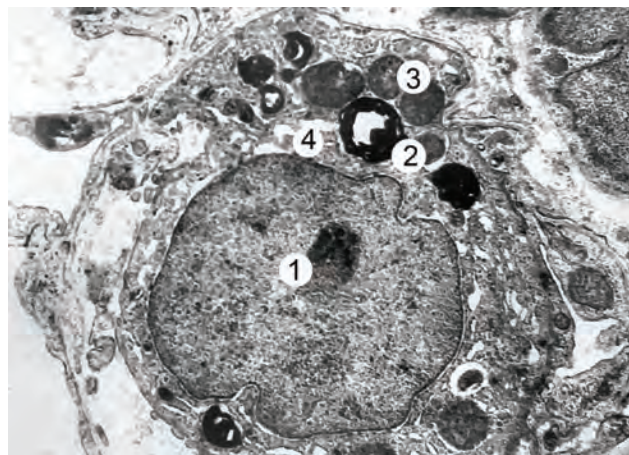


Рис. 2. Ультраструктурні зміни альвеолоцита II типу респіраторного відділу легень через 2 год після гострого ураження легень. Ядро з ядерцем (1), осміофільні пластинчасті тільця (2), гомогенні мітохондрії (3), розширені каналці ендоплазматичної сітки (4). x 15 000.

під каріолемою. В цитоплазмі виявляють набряклі, вакуолоподібні мітохондрії із ушкодженими кристами. Канальці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі нерівномірно розширені та фрагментовані. Периферійні цитоплазматичні ділянки клітин неоднорідної товщини, в деяких місцях мають набряклі зони, через які випинаються в просвіт гемокапіляра, виявляються поодинокі мікропіноцитозні міхурці та кавеоли. Базальна мембрана неоднорідної товщини, гомогенна, спостерігаються витончені та зонально потовщені ділянки.

Характерними для цитоплазматичних ділянок епітеліоцитів I типу були просвітлення, набряк, малопіноцитозні міхурці та утворення значних випинань в просвіт альвеоли. Округлі ядра клітин мали інвагінації каріолеми, перинуклеарні простори локально розширені. Цитоплазма клітин містила небагато органел, котрі вакуолізовані та деструктивно змінені (рис. 3).

В альвеолоцитах II типу через 6 год встановлено прогресування деструктивних змін. Для них характерні гіпертрофовані ядра з глибокими інвагінаціями каріолеми, в якій виявлялося мало ядерних пор, локально розширеним перинуклеарним простором. У набряклій цитоплазмі виявляються деструктивно змінені органели. Пластинчастих тілець небагато, вони значно змінені, мають небагато оформленого осміофільного матеріалу, частина з них фрагментована, просвітлена. На апікальній частині клітин виявлялися поодинокі невисокі мікрворсинки (рис. 4).

У просвіті альвеол виявлялися фагоцитуючі альвеолярні макрофаги, їх плазмолема утворювала багато цитоплазматичних випинань, виростів та інвагінацій. Невеликі ядра неправильної форми з незначними інвагінаціями та нечітко контурованою каріолемою. В каріоплазмі переважав еухроматин, та виявлявся маргінально розташований гетерохроматин. У цитоплазмі визначалися невеликі, округлої форми мітохондрії із фрагментованими та частково редукованими кристами. Комплекс Гольджі утворений невеликими цистернами, чисельними пухирцями і вакуолями. Гранулярна ендоплазматична сітка утворена розширеними канальцями. Фагоцитарна активність таких клітин зумовлена великою кількістю первинних лізосом та фагосом, гетерогенних за внутрішнім вмістом та розмірами (рис. 5).

Такі порушення з боку сурфактантної системи легень виникають у результаті зміни складу його фосфоліпідного спектра, що ми встановили, який забезпечує поверхнево-активні властивості вмісту альвеол. Результати попередніх біохімічних досліджень сурфактанта свідчать про порушений розподіл фосфоліпідів у легнях, а також про підсилення їх катаболізму. Фосфоліпази, активовані протеазами, гідролізують фосфоліпіди до жирних кислот та лізосполук, що підтверджується показниками ліпідного обміну легень щурів при гострому респіраторному дистрес-синдромі [12]. Отримані дані вказують на зниження сурфактантсинтезуючої здатності легень при ГРДС та обґрунтовують ультраструктурні зміни компонентів аерогематичного бар'єра респіраторного відділу легень щурів.

ВИСНОВКИ Гостре ураження легень хлоридною кислотою призводить до порушення ультраструктурної організації аерогематичного бар'єра, яка характеризується пристосувально-компенсаторними процесами та ознаками деструктивних змін альвеолярного епітелію та стінки гемокапілярів, що призводить до погіршення газообмінних процесів у легнях.

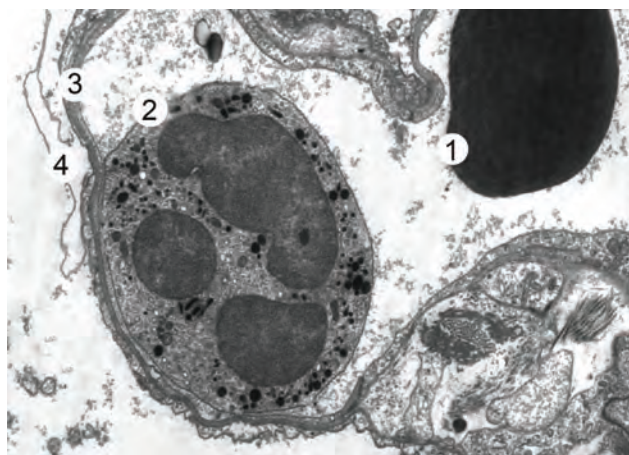


Рис. 3. Субмікроскопічні зміни стінки альвеоли та гемокапіляра після 2 год після експериментального гострого ураження легень. Розширений просвіт гемокапіляра з еритроцитом (1) та нейтрофільним гранулоцитом (2) в просвіті. Аерогематичний бар'єр (3), набрякла ділянка альвеолоцита I типу (4). x 7000.

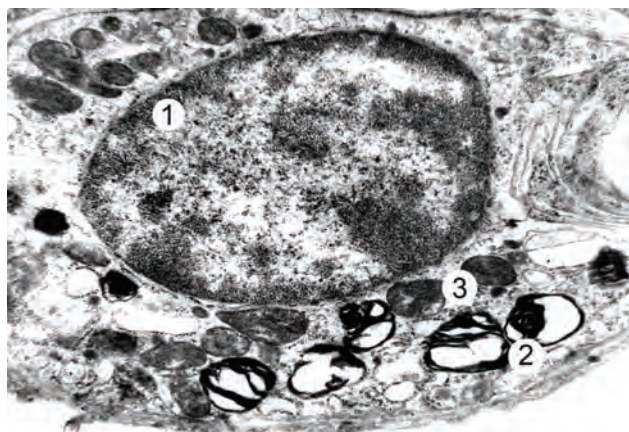


Рис. 4. Субмікроскопічні зміни секреторного альвеолоцита респіраторного відділу легень через 6 год після гострого ураження легень. Ядро з маргінальним розташуванням гетерохроматину (1), гіпертрофовані змінені пластинчасті тільця (2), осміофільні, деструктивно змінені матохондрії (3). x 15 000.

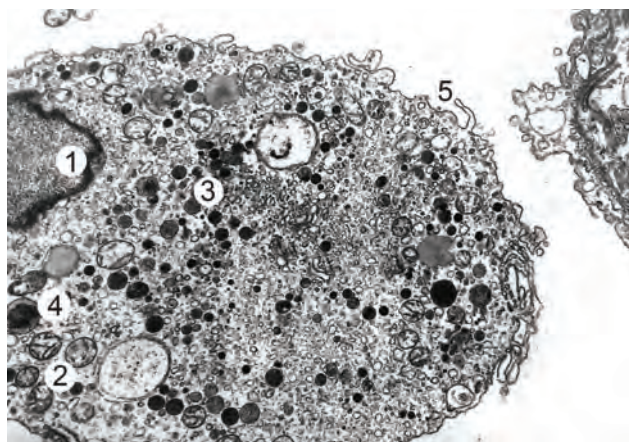


Рис. 5. Ультраструктурні зміни альвеолярного макрофага респіраторного відділу легень через 6 год після гострого ураження легень. Ядро (1), мітохондрії (2), лізосоми (3), фагосоми (4), випинання плазмолеми апікальної поверхні клітин (5). x 20 000.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Functional disability 5 years after acute respiratory distress syndrome / M. S. Herridge, C. M. Tansey, A. Matt [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 364, No. 14 – P. 1293–1304.
2. Ware L. B. The acute respiratory distress syndrome / L. B. Ware, M. A. Matthay // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – No. 342 (1). – P. 1334–1349.
3. Matthay M. A. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: four decades of inquiry into pathogenesis and rational management / M. A. Matthay, G. A. Zimmerman // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2005. – Vol. 33. – P. 319–327.
4. Analytic review: the pathogenetic and prognostic value of biologic markers in acute lung injury / J. E. Levitt, M. K. Gould, L. B. Ware, M. A. Matthay // *J. Intensive Care Med.* – 2009. – Vol. 24. – P. 151–167.
5. The alveolar space is the site of intense inflammatory and profibrotic reactions in the early phase of acute respiratory distress syndrome / J. Pugin, G. Verghese, M. C. Widmer, M. A. Matthay // *Crit. Care. Med.* – 1999. – Vol. 27. – P. 304–312.
6. Zemans R. L. Transepithelial migration of neutrophils: mechanisms and implications for acute lung injury / R. L. Zemans, S. P. Colgan, G. P. Downey // *Am. J. Respir. Cell Mo. Biol.* – 2009. – Vol. 40. – P. 519–535.
7. Incidence and outcomes of acute lung injury / G. D. Rubenfeld, E. Caldwell, E. Peabody [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353. – P. 1685–1693.
8. Acute lung injury edema fluid decreases net fluid transport across human alveolar epithelial type II cells / J. W. Lee, X. Fang, G. Dolganov [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 24109–24119.
9. Новиков Н. Ю. Патоморфологические изменения аэрогемаического барьера при остром респираторном дистресс-синдроме в эксперименте / Н. Ю. Новиков, Л. В. Тышкевич, К. Н. Джансыз // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2012. – Т. 15, № 1 (57). – С. 169–175.
10. European convention to the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – No. 123 – 52p.
11. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2011. – 288 с.
12. Особливості біохімічного складу сурфактанта легень щурів при гострому респираторному дистрес-синдромі / В. О. Бєський, Л. А. Гришук, А. М. Шумеляк, М. І. Марущак // *Медична та клінічна хімія.* – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 111–116.

Отримано 04.04.18

©V. O. Beskyy¹, Z. M. Nebesna² M. I. Marushchak², L. A. Hryshchuk²*Ternopil University Hospital¹**I. Horbachevsky Ternopil State Medical University²***SUBMICROSCOPIC CHANGES OF AEROGHEMATICAL BARRIER COMPONENTS OF THE RESPIRATORY DEPARTMENT OF RATS LUNGS IN EARLY TIMES AFTER ACUTE DAMAGE BY HYDROCHLORIC ACID**

Summary. Submicroscopic studies of the respiratory part of the lungs after 2 and 6 hours after the experimental acute lung injury with hydrochloric acid established adaptive-compensatory and destructive changes in the components of the air-blood barrier.

The aim of the study – to learn submicroscopic changes in the components of the air-blood barrier of the lungs in the early period after acute lung injury.

Materials and Methods. The experiments were carried out on 30 white mature non-linear male rats weighing 200–220 g. The animals were divided into 3 groups: 1 – control group, 2 – hydrochloric acid damage after 2 hours, 3 – hydrochloric acid damage after 6 hour.

Results and Discussion. In an experiment on mature white rats, a study was made of the submicroscopic state of the components of the air-blood barrier in the early periods after acute lung injury. It has been established that adaptive-compensatory and initial destructive changes of the alveolar epithelium and the walls of the hemocapillary take place at 2 o'clock in the experiment. The cytoplasm of respiratory epitheliocytes during this period of the experiment was focal-edematous and enlightened, organelles were destructively altered. For alveolocytes of type I, there was a significant swelling and clarification of the cytoplasm. During this period of the experiment, an increased number of actively phagocytizing macrophages appeared, which acquired a rounded shape, clearly contoured membranes of the cariolema, their invaginations were determined, and in the karyoplasm euchromatin predominated. In alveolocytes of type II, after 6 hours, the progression of destructive changes was established. For which there were peculiarity hypertrophied nuclei with deep invagination of the cariolema, in which there were few nuclear pores, locally expanded perinuclear space. In the edematous cytoplasm, organelles were found to be destructively altered.

Conclusions. Acute damage to the lungs leads to a disruption of the ultrastructural organization of the air-blood barrier. Established adaptive-compensatory processes and signs of destructive changes in the alveolar epithelium and the walls of hemocapillaries, which leads to deterioration of gas-exchange processes in the lungs.

Key words: aerogematic barrier; ultrastructural changes; acute lung injury.

©В. О. Беський¹, З. М. Небесна², М. И. Марущак², Л. А. Грищук²

Тернопольская университетская больница¹

ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского»²

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ АЭРОГАМАТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ КРЫС В РАННИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОСТРОГО ПОРАЖЕНИЯ ХЛОРИДНОЙ КИСЛОТОЙ

Резюме. Субмикроскопические исследования респираторного отдела легких через 2 и 6 ч после экспериментального острого поражения легких хлоридной кислотой установили приспособительно-компенсаторные и деструктивные изменения компонентов аэрогаматического барьера.

Цель исследования – изучить субмикроскопические изменения компонентов аэрогаматического барьера легких в ранние сроки после острого поражения легких.

Материалы и методы. Опыты были проведены на 30 белых половозрелых нелинейных крысах-самцах массой 200–220 г. Животных разделили на 3 группы: первая – контрольная группа, вторая – поражение хлоридной кислотой через 2 ч, третья – поражение хлоридной кислотой через 6 ч.

Результаты исследований и их обсуждение. В эксперименте на половозрелых белых крысах проведено исследование субмикроскопического состояния компонентов аэрогаматического барьера в ранние сроки после острого поражения легких. Установлено, что на 2 ч эксперимента происходят приспособительно-компенсаторные и начальные деструктивные изменения альвеолярного эпителия и стенки гемокапилляров. Цитоплазма респираторных эпителиоцитов в этот срок опыта была очагово-отечная и просветленная, органеллы деструктивно изменены. Для альвеолоцитов I типа характерным был значительный отек и просветления цитоплазмы. В этот срок опыта проявлялось повышенное количество активно фагоцитирующих макрофагов, которые приобретали округлую форму, четко контурированные мембраны кариолемы, определились их инвагинации, а в кариоплазме преобладал эухроматин. В альвеолоцитах II типа через 6 ч установлено прогрессирование деструктивных изменений. Для которых были характерны гипертрофированные ядра с глубокой инвагинацией кариолемы, в которой оказывалось мало ядерных пор, локально расширенным перинуклеарным пространством. В отечной цитоплазме выявлялись деструктивно изменены органеллы.

Выводы. Острое поражение легких приводит к нарушению ультраструктурной организации аэрогаматического барьера. Установлены приспособительно-компенсаторные процессы и признаки деструктивных изменений альвеолярного эпителия и стенки гемокапилляров, что приводит к ухудшению газообменных процессов в легких.

Ключевые слова: аэрогаматический барьер; ультраструктурные изменения; острое поражение легких.