

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ (экспериментальное исследование)

В. В. Мороз¹, А. М. Голубев¹, Ю. В. Марченков¹, Ю. А. Городовикова¹,
Ю. Г. Зорина¹, Д. В. Лысенко², Д. В. Сундуков², П. Шаман²

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Москва,

² Российский Университет Дружбы Народов, Москва

Morphological Signs of Acute Lung Injury of Varying Etiology (Experimental Study)

V. V. Moroz¹, A. M. Golubev¹, Yu. V. Marchenkov¹, Yu. A. Gorodovikova¹,
Yu. G. Zorina¹, D. V. Lysenko², D. V. Sundukov², P. Shaman²

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

² Russian University of Peoples' Friendship, Moscow

Цель исследования. Выявление морфологических изменений в легких при остром повреждении легких (ОПЛ) различной этиологии. **Материал и методы.** Эксперимент проведен в 4 группах белых беспородных крыс-самцов, массой 300–400 г. Модели ОПЛ: 1 – аспирация раствора ацидин-пепсина (PH-1,2); 2 – аспирация крови; 3 – кровопотеря (50% ОЦК) в сочетании с тромбозом сосудов микроциркуляторного русла легких; 4 – ИВЛ-индуцированное ОПЛ. Длительность исследования от 1 часа до 3-х суток. Гистологические срезы легких окрашивали гематоксилином и эозином, проводилась ШИК-реакция. **Результаты.** У всех животных развивался интерстициальный отек, отмечалось слущивание эпителия бронхов, повреждение эндотелия и базальных мембран капилляров, инфильтрация межальвеолярных перегородок сегментоядерными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами, выявлялись ателектазы, кровоизлияния, сгустки. **Заключение.** Морфологические признаки острого повреждения легких носят неспецифический характер и не зависят от этиологического фактора. Морфологические изменения при остром повреждении легких приводят к повреждению эндотелия легочных капилляров, их базальных мембран, увеличению проницаемости капилляров, накоплению внесосудистой жидкости и экссудации белков с формированием некардиогенного отека легких. **Ключевые слова:** острое повреждение легких, кровопотеря, ИВЛ, аспирация.

Objective: to reveal pulmonary morphological changes in acute lung injury (ALI) of varying etiology. **Material and methods.** An experiment was carried out on 4 groups of albino non-inbred male rats weighing 300–400 g. The following ALI models were 1) acidin-pepsin solution (PH-1.2) aspiration; 2) blood aspiration; 3) blood loss (50% circulating blood volume) concurrent with vascular thrombosis in the microcirculatory bed; 4) artificial ventilation-induced ALI. The duration of the study was 1 hour to 3 days. Histological lung slices were stained with hematoxylin and eosin; a Schiff reaction was conducted. **Results.** All the animals developed interstitial edema, exhibited desquamation of the bronchial epithelium; damage to the capillary endothelium and basement membranes; segmental leukocyte, macrophage, and lymphocyte infiltration of intraalveolar septa, atelectases, hemorrhages, and sludges. **Conclusion.** Morphological signs in ALI are non-specific and they do not depend on an etiological factor. Morphological changes in ALI result in damage to the endothelium of lung capillaries and their basement membranes, higher capillary permeability, extravascular fluid accumulation, and protein exudation with the development of noncardiogenic pulmonary edema. **Key words:** acute lung injury, blood loss, artificial ventilation, aspiration.

Причиной острой дыхательной недостаточности, возникающей у больных в критических состояниях, часто является острый респираторный дистресс-синдром, имеющий полиэтиологический характер, первой стадией которого является острое повреждение легких (ОПЛ) [1]. Летальность у больных с этим осложнением остается очень высокой. К факторам, вызывающим

ОПЛ, относится аспирация желудочного содержимого и/или крови [2], которые встречаются у больных с угнетенным сознанием [3, 4], кровопотеря, ИВЛ-индуцированное повреждение (баротравма, волюмотравма, ателектотравма, токсическое влияние кислорода) [5, 6].

Цель исследования – изучить в эксперименте морфологические признаки острого повреждения легких различной этиологии.

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Марченков Юрий Викторович
E-mail: marchenkov@yandex.ru

Материалы и методы

Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 300–400 г. В эксперименте были созданы модели

ОПЛ, развившегося вследствие аспирации желудочного содержимого (группа 1-я, $n=25$), аспирации крови (группа 2-я, $n=16$), кровопотери и тромбоза сосудов микроциркуляции легких (группа 3-я, $n=50$), ИВЛ-индуцированного ОПЛ (группа 4-я, $n=40$).

Всех крыс вводили в наркоз 1% раствором тиопентала натрия внутривенно в дозе 15–20 мг/кг массы тела животного. Миорелаксацию обеспечивали 1% раствором листенона (40–50 мг). После этого интубировали трахею полихлорвиниловой трубкой диаметром 2,5 мм или вводили трубку того же диаметра через трахеостому (при трудностях с интубацией). Для поддержания анестезии применяли 1% раствор тиопентала натрия 5–10 мг/кг массы тела. Искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) проводили аппаратом «TSE Animal Respirator Process Control O₂-25» (Technical Scientific Equipment, Германия).

При моделировании аспирационного ОПЛ в 1-й группе после введения животных в наркоз и интубации трахеи проводили искусственную вентиляцию легких в контролируемом по давлению режиме с параметрами: поток – 0,5 л/мин, ЧД=60–80 в минуту, инспираторное давление 20 мм вод.ст., процентное соотношение времени вдоха к времени плато 40:10, при этом дыхательный объем составлял около 2–3 мл (6 мл/кг массы животного). Далее в трахею вводили растворенный в физиологическом растворе ацидин-пепсин с pH 1,2 (ОАО «Белмедпрепараты» г. Минск) в количестве 0,3 мл. Во 2-й группе в трахею вводили жидкую кровь (консервированная раствором цитрата натрия в соотношении 1:10) в количестве 0,3 мл. ИВЛ проводили в течение часа всем животным. Крысы наблюдались 1, 3, 6, 24 часа и 3-е суток. После моделирования аспирации крыс выводили из эксперимента путем введения внутривенно 10% раствора тиопентала натрия, а затем листенона.

В 3-й группе моделирование кровопотери производилось путем удаления крови из яремной вены через венозный катетер в объеме 10–12 мл/кг (50% ОЦК). Далее с помощью инфузomата фирмы В. Браун (Германия) в течение 15 минут животным вводили 1 мл раствора лиофилизированного очищенного тромбопластина производства НПО «Ренам» (Россия). Раствор готовили непосредственно перед введением из расчета 20 мг сухого тромбопластина на 1 мл 0,9% раствора NaCl. Доза вводимого тромбопластина составляла 20 мг/кг.

При моделировании ИВЛ-индуцированного повреждения легких в 4-й группе крысам проводили ИВЛ и «мобилизацию альвеол» по методике «40×40». Параметры ИВЛ в этой группе животных были следующими: поток = 0,4–0,5 л/мин, ЧД – 60 в мин, ДО – 1–5 мл. Для мобилизации альвеол на 40 секунд в дыхательных путях создавалось постоянное положительное давление в 40 см вод. ст. Через 40 секунд давление снижалось и ПДКВ устанавливалось на отметке в 6 см вод. ст. Далее ИВЛ проводили с подобранными параметрами в течение 20 минут, после чего «мобилизацию альвеол» повторяли (как было описано выше). После завершения повторной «мобилизации альвеол» ПДКВ вновь возвращали к значению 6 см вод. ст. и вентилировали животных в течение последующих 20 минут. Таким образом, в течение часа «мобилизацию альвеол» проводили трехкратно с интервалом в 20 минут. 50% животных 1-й группы выводили из эксперимента введением тиопентала натрия. Остальным животным продолжали ИВЛ в течение еще 2-х часов.

После завершения эксперимента в каждой из четырех групп проводили забор легких для морфометрического исследования. Кусочки легких фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, проводили ШИК-реакцию.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспериментов у крыс всех экспериментальных групп были выявлены морфологические изменения в легких.

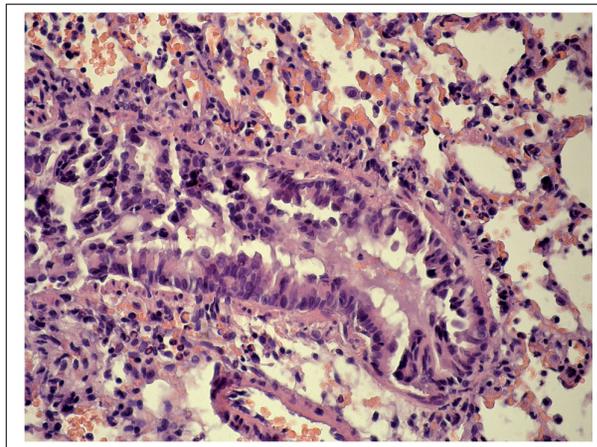


Рис. 1. Слущивание эпителия, секрет в просвете бронхиолы. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

В 1-й группе через 1 час в просветах крупных бронхов и бронхиол (включая респираторные) выявляются пласты слущенного эпителия слизистой оболочки, макрофаги, лимфоидные клетки, эритроциты (рис. 1).

В цитоплазме макрофагов видны включения фрагментов ядер. Некоторые бронхиолы расширены, складчатость слизистой оболочки отсутствует. В просветах бронхов содержится секрет, частично обтурирующий просветы бронхов и бронхиол. Реснички призматического эпителия укорочены, многие эпителиальные клетки не содержат ресничек. Вокруг отдельных мелких бронхов видны небольшие скопления сегментоядерных лейкоцитов. Многие альвеолярные ходы расширены. Отмечается расширение альвеол (особенно в субплевральных отделах). В то же время обнаруживаются дистелектазы и микроателектазы. В просветах некоторых альвеол видны макрофаги, эритроциты, единичные сегментоядерные лейкоциты. Выявляются очаговые альвеолярные кровоизлияния. В некоторых альвеолах, расположенных субплеврально, содержится отечная жидкость, свидетельствующая о развитии отека легких. Контуры многих межальвеолярных перегородок неровные: участки расширения чередуются с участками сужения. Капилляры межальвеолярных перегородок неравномерно полнокровны. В межальвеолярных перегородках увеличено содержание клеток: сегментоядерных лейкоцитов, макрофагов, лимфоцитов. В просветах части капилляров видны эритроциты, в других они не выявляются. Многие межальвеолярные перегородки отечны, в них обнаруживаются кровоизлияния. Легочные артерии умеренно полнокровны. Эндотелиальные клетки набухшие, их ядра выступают в просвет сосудов. Некоторые эндотелиальные клетки отслаиваются от базальной мембраны с образованием щелевидных пространств. Ядра части эндотелиальных клеток не окрашены. Отмечается отек субэндотелиального и мышечного слоя легочных артерий с отслоением эндотелия и расслоением слоев мышечной стенки сосудов. В просветах мелких ветвей легочной артерии обнаруживаются небольшие скопления сегментоядерных

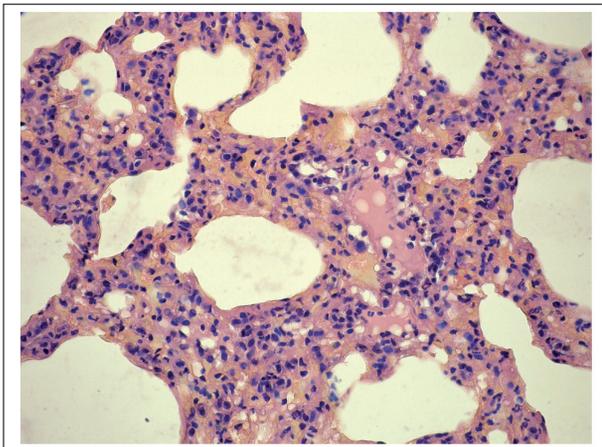


Рис. 2. Клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

лейкоцитов. Вены и венулы умеренно расширены, полнокровны. В легочных артериях и венах формируются складки. Просветы артериовенозных анастомозов не расширены. Лимфатические сосуды, расположенные субплеврально и в адвентиции крупных ветвей легочной артерии, расширены. Периваскулярная соединительная ткань отечна.

Через 3 часа после аспирации ацидин-пепсина отмечается повышенная продукция секрета эпителием слизистой оболочки бронхов. В просветах крупных бронхов и бронхиол содержится секрет, слущенные эпителиальные клетки, которые obtурируют просветы части бронхиол. Усилена складчатость слизистой оболочки некоторых бронхов, в результате чего бронхи приобретают звездчатую форму. В то же время другие бронхи расширены, их слизистая оболочка сглажена, просветы свободны. Ядра эпителиальных клеток слизистой оболочки бронхов окрашены неравномерно, некоторые ядра гиперхромны, другие, напротив, гипохромны. В части клеток ядра не окрашены. Апикальный отдел эпителиальных клеток эозинофильный, гомогенный, реснички не просматриваются. Отмечается расширение альвеолярных ходов и альвеол (преимущественно в субплевральных отделах). Выявляются очаговые дистелектазы. В участках легких, где просветы бронхов закрыты секретом и слущенными эпителиальными клетками, обнаруживаются массивные ателектазы. В просветах альвеол содержатся эритроциты. Обнаруживаются многочисленные, в том числе обширные, альвеолярные кровоизлияния. В участках легких, где альвеолы расширены, межальвеолярные перегородки истончены, а в других отделах они утолщены за счет клеточной инфильтрации (сегментоядерными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами) и отека. Капилляры межальвеолярных перегородок неравномерно полнокровны. Вены и венулы расширены, полнокровны. Лимфатические сосуды (периваскулярные) умеренно расширены. Соединительная ткань отечна, обнаруживаются периваскулярные кровоизлияния, инфильтрация межальвеолярных перегородок и межклеточной тка-

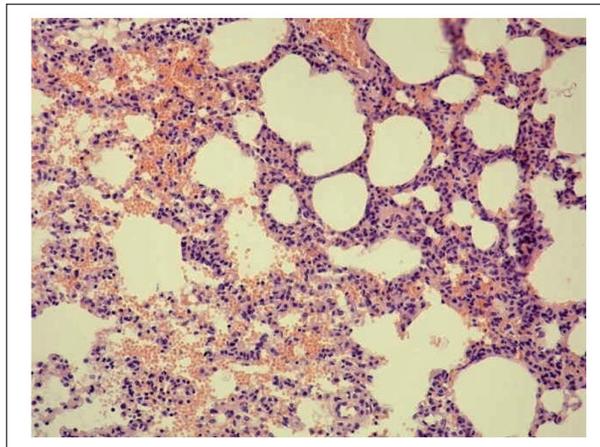


Рис. 3. Эритроциты в альвеолах. Клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

ни сегментоядерными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами (рис. 2).

Через 6 часов от начала эксперимента ядра слущенных в просвет бронхов эпителиальных клеток пикнотичны или не окрашены. Обнаруживаются апоптотические тельца. Преобладают альвеолы небольших размеров. Очаги эмфиземы чередуются с участками ателектазов и дистелектазов. В участках эмфиземы отмечается расширение пор Кона. Большинство межальвеолярных перегородок утолщены за счет отека, полнокровия капилляров и клеточной инфильтрации. Выявляются очаговые альвеолярные кровоизлияния. Отмечается умеренный отек периваскулярной соединительной ткани. Вены и венулы расширены, полнокровны.

Через 24 часа после моделирования аспирации отмечаются аналогичные изменения. Просветы части бронхов obtурированы слущенным эпителием. Кроме этого в их просветах содержится секрет, эритроциты. Многие бронхи деформированы, просветы неправильной формы, значительно уменьшены. Наряду с расширенными альвеолами выявляются дистелектазы и ателектазы. Обнаруживаются альвеолярные кровоизлияния, участки альвеолярного субплеврального отека. В части альвеол выявляются макрофаги. Межальвеолярные перегородки утолщены за счет клеточной инфильтрации. Капилляры и венулы резко полнокровны, в них повышено содержание сегментоядерных лейкоцитов. Регистрируется периваскулярный отек и клеточная инфильтрация соединительной ткани.

В легких крыс с аспирацией крови (группа 2) были выявлены изменения, схожие с таковыми у крыс с аспирацией ацидин-пепсина: через час после введения крови многие бронхиолы имели неправильную форму, в их просветах обнаруживался слущенный эпителий, эритроциты, макрофаги. Эритроциты также обнаруживались в альвеолах, межальвеолярные перегородки были инфильтрированы сегментоядерными лейкоцитами, макрофагами и лимфоцитами (рис. 3).

В отличие от крыс с аспирацией ацидин-пепсина, у этой группы животных альвеолярный отек легких

развивался позже. Только через 3–6 часов наряду с периваскулярным отеком и клеточной инфильтрацией соединительной ткани выявлялась отечная жидкость в просветах альвеолярных ходов и альвеол (рис. 4). Через 24 часа от начала эксперимента очаги эмфиземы чередовались с участками ателектазов и дистелектазов. Большинство межальвеолярных перегородок утолщены за счет отека, полнокровия капилляров и клеточной инфильтрации. Вены и венулы расширены, полнокровны. В просвете многих альвеол содержится отечная жидкость.

В 3-й группе через 1–3 часа после введения тромбопластина в просветах мелких ветвей легочной артерии, капиллярах и венулах выявлялись тромбы. Отмечается усиление секреции бокаловидными клетками слизистой оболочки бронхов.

В просветах бронхиол содержится секрет и слущенные эпителиальные клетки (рис. 5).

В ядрах таких клеток отмечаются признаки пикноза или лизиса. Альвеолы неравномерно воздушны, выявляются очаговые дистелектазы и ателектазы, чаще в тех участках, где бронхиолы находятся в спавшемся состоянии или их просветы заполнены секретом и слущенными клетками.

В альвеолах содержится отечная жидкость. Отмечается расширение альвеол с истончением межальвеолярных перегородок. Напротив, некоторые межальвеолярные перегородки утолщены, инфильтрированы сегментоядерными лейкоцитами и макрофагами (рис. 5). Эндотелий тромбированных микрососудов с неокрашенными, гипохромными или пикнотичными ядрами.

В венулах наблюдается краевое расположение лейкоцитов, а также их скопление вокруг ветвей легочной артерии. Обнаруживаются периваскулярный отек и кровоизлияния. Лимфатические сосуды умеренно расширены.

Через сутки от начала эксперимента сохраняются признаки повышенной секреции бокаловидными клетками. Ядра слущенных эпителиальных клеток не окрашены или гиперхромные, сморщенные, встречаются апоптотические тельца. Некоторые мелкие бронхи и бронхиолы находятся в спавшемся состоянии, выявляются очаговые ателектазы и дистелектазы. В просветах альвеол содержится отечная жидкость. В межальвеолярных перегородках регистрируется скопление лейкоцитов, диапедезные кровоизлияния.

В зонах кровоизлияний на 3-и сутки формируются очаги некроза. В просветах сосудов в эти сроки эксперимента тромбы или не выявляются, или обнаруживаются в небольшом числе мелких ветвей легочной артерии и единичных венулах. В этих же сосудах определяется краевое расположение нейтрофильных лейкоцитов. В части сосудов тромбы носят характер пристеночных. Капилляры полнокровны. Обнаруживаются периваскулярные кровоизлияния. Стенки тромбированных венул инфильтрированы сегментоядерными лейкоцитами. Ядра эндотелиальных клеток сосудов, в которых обнаруживаются тромбы, гиперхромные, пикнотичны.

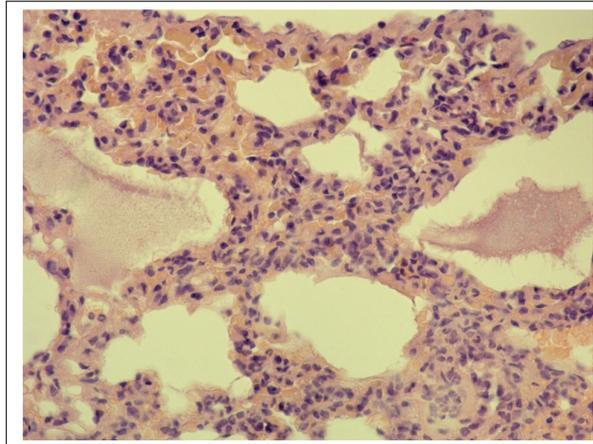


Рис. 4. Альвеолярный отек. Утолщение межальвеолярных перегородок. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

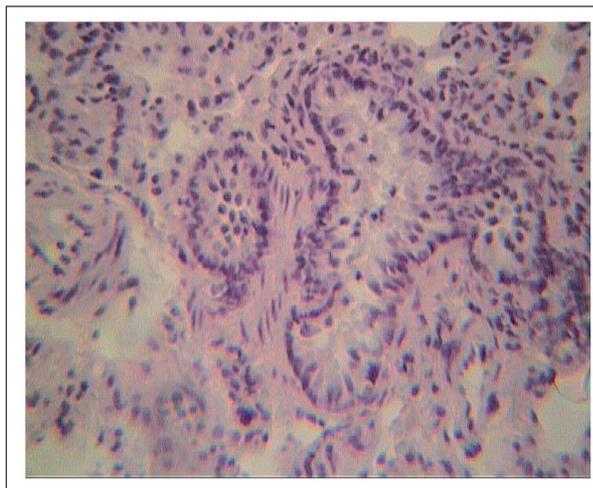


Рис. 5. В просвете бронхиол слущенные эпителиальные клетки, секрет. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

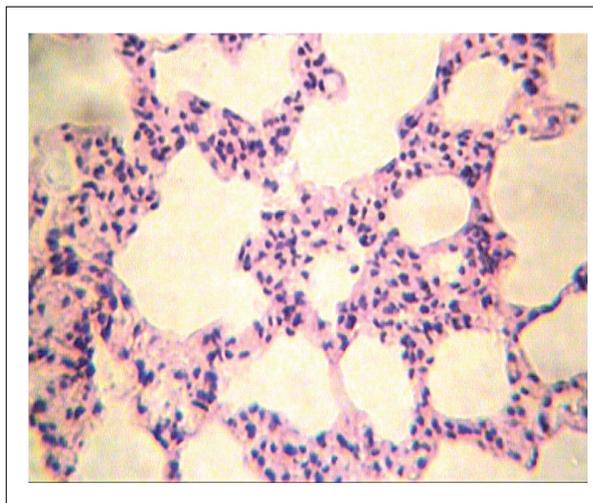


Рис. 6. Лейкоцитарно-макрофагальная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

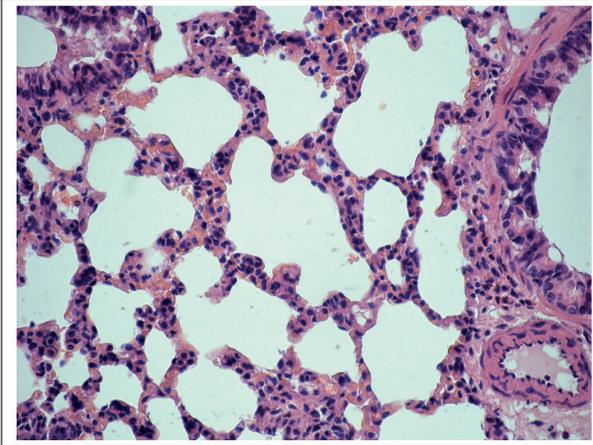


Рис. 7. Межальвеолярные перегородки инфильтрированы лейкоцитами и макрофагами. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

В 4-й группе морфологические изменения легких регистрировали через 60 минут после трехкратного выполнения «мобилизации альвеол» методикой «40×40».

К концу первого часа ИВЛ просветы респираторных бронхиол при переходе в альвеолярные ходы были закрыты секретом. Отдельные бронхи имеют округлую форму, их слизистая оболочка сглажена. В то же время некоторые бронхи неправильной формы, их слизистая оболочка образует выраженные складки.

Альвеолярные ходы и многие альвеолы расширены, просветы их свободны. Выявляются участки в легких, где альвеолы уменьшены в диаметре.

Просветы большинства альвеол свободны, но в некоторых обнаруживается слабо эозинофильное содержимое, располагающееся на внутренних стенках межальвеолярных перегородок. В части альвеол выявляются эритроциты. Через 180 минут от начала ИВЛ на территории межальвеолярных перегородок выявляется большое количество клеток: сегментоядерных лейкоцитов, макрофагов, лимфоцитов (рис. 7).

Обнаруживаются микроателектазы. Легочные артерии умеренно полнокровны. Капилляры неравномерно полнокровны. В тех участках, где альвеолы не расширены, а также в зонах дистелектазов, наблюдается полнокровие капилляров и диапедез эритроцитов в альвеолы. В зонах расширения альвеол и истончения межальвеолярных перегородок капилляры малокровны. Вены и венулы умеренно полнокровны. Ядра эндотелиальных клеток частично набухшие, выступают в просвет венул. В этот период появляются признаки интерстициального отека, проявляющегося разрыхлением периваскулярной соединительной ткани вокруг некоторых сосудов. Через 3 часа от начала эксперимента морфологические изменения нарастают. В просветах бронхов выявляются пласты слущенного альвеолярного эпителия, усиливается интерстициальный и альвеолярный отек, в просветах альвеол обнаруживаются эритроциты. Усиливается инфильт-

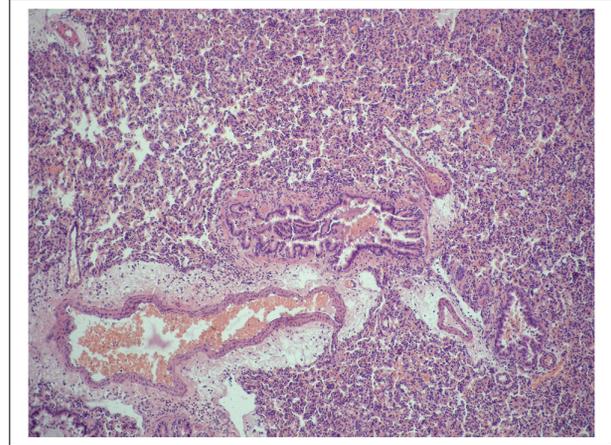


Рис. 8. Микроателектазы. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

рация межальвеолярных перегородок лейкоцитами, макрофагами. Развиваются многочисленные микроателектазы (рис. 8). В то же время в других участках выявляются расширенные альвеолы, межальвеолярные перегородки в этих участках истончены.

Заключение

Таким образом, при исследовании гистологических срезов легких во всех группах животных (крыс) через 1–3 часа от начала эксперимента выявлены признаки острого повреждения легких в ответ на действие повреждающего фактора. Повреждение эндотелия капилляров, их базальных мембран ведет к повышению сосудистой проницаемости и появлению интерстициального, а затем и альвеолярного отека легких, расстройству микроциркуляции, агрегации эритроцитов, формированию стазов, сладжей и тромбов. Увеличение содержания сегментоядерных нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов в межальвеолярных перегородках отражает реакцию адаптации и иммунной системы в условиях действия повреждающих факторов. Возникающие ателектазы и дистелектазы являются следствием закупорки бронхиол секретом, что ведет к увеличению мертвого пространства, повреждению эндотелия альвеол, прогрессированию гипоксии [7–9]. Поступление в интерстиций воды, электролитов, альбумина усугубляет отек соединительной ткани. При дальнейшем прогрессировании жидкость из интерстиция проникает в альвеолы [10].

Следовательно, морфологические признаки острого повреждения легких носят неспецифический характер и не зависят от этиологического фактора. При остром повреждении легких факторы агрессии приводят к повреждению эндотелия легочных капилляров, их базальной мембраны, увеличению проницаемости капилляров, накоплению внесосудистой жидкости и экссудации белков с формированием некардиогенного отека легких.

Литература

1. Мороз В. В., Голубев А. М. Классификация острого респираторного дистресс-синдрома. Общая реаниматология 2007; III (5–6): 7–9.
2. Ware L. B., Matthay M. A. The acute respiratory distress syndrome. N. Engl. J. Med. 2000; 342 (18): 1334–1349.
3. Adnet F., Baud F. Relation between Glasgow coma and aspiration pneumonia. Lancet 1996; 348 (9020): 123–124.
4. Huxley E. J., Viroslav J., Gray W. R., Pierce A. K. Pharyngeal aspiration in normal adults and patients with depressed consciousness. Am. J. Med. 1978; 64 (4): 564–568.
5. Голубев А. М., Мороз В. В., Лысенко Д. В. ИВЛ-индуцированное острое повреждение легких. Общая реаниматология 2006; II (4): 8–12.
6. Webb H. H., Tierney D. F. Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures; protection by positive end-expiratory pressure. Am. Rev. Respir. Dis. 1974; 110 (5): 556–565.
7. Ерохин В. В. Функциональная морфология респираторного отдела легких. М.: Медицина; 1987. 215–216.
8. Малышев В. Д. Острая дыхательная недостаточность. М.: Медицина; 1989. 170.
9. Demling R. H. Adult respiratory distress syndrome: current concepts. New Horiz. 1993; 1 (3): 388–401.
10. Кассиль В. Л., Золотокрылина Е. С. Острый респираторный дистресс-синдром. М.: Медицина; 2006. 39–41.

Поступила 09.04.10

 **RESUSCITATION**
DECEMBER 2-4 2010
PORTO PORTUGAL

FIRST ANNOUNCEMENT

The Guidelines Congress

10TH SCIENTIFIC CONGRESS OF THE
EUROPEAN RESUSCITATION COUNCIL

 European
Resuscitation
Council