

ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КОМПОНЕНТІВ АЕРОГЕМАТИЧНОГО БАР'ЄРУ ЧЕРЕЗ 24 ГОДИНИ ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

Метою роботи було вивчити особливості ультраструктурної реорганізації компонентів респіраторного відділу легень при експериментальній гострій нирковій недостатності.

Матеріали та методи. Результати отримані в ході експерименту на статевозрілих білих щурах-самцях з використанням електронно-мікроскопічного методу дослідження. Було вивчено особливості ультраструктурної реорганізації компонентів респіраторного відділу легень при експериментальній гострій нирковій недостатності.

Результати та висновки. Виявлено, що зміни дистрофічно-деструктивного характеру присутні уже через 24-год експерименту та проявляються розвитком набрякових явищ у альвеолоцитах I, II типів, альвеолярних макрофагах, ендотеліюцитах гемокапілярів. Також збільшення проникності стінок гемокапілярів супроводжується розвитком інтерстиційного та внутрішньоальвеолярного набряків. Окремі альвеолоцити I типу містили вітрилоподібні випинання периферійної частини. Кількість пластинчастих тілець збільшена, вони різної форми і величини. На поверхні альвеолоцитів II типу відмічаються мікрроворсинки.

Накопичення набрякової рідини в альвеолоцитах I, II типів призводить до розривів плазмолем і виходу внутрішньоклітинних структур у просвіт альвеол. У просвітах гемокапілярів зустрічаються еритроцитарні агрегати, явища адгезії та агрегації лейкоцитів і тромбоцитів. Внаслідок набряку ендотеліюцитів та явищ агрегації формених елементів крові, в окремих місцях можна спостерігати перекриття або різке звуження просвіту гемокапілярів. Базальна мембрана характеризується нечіткими контурами та потовщенням на всьому протязі. Виражені порушення структурної організації компонентів аерогематичного бар'єру легень призводять до виходу формених елементів крові в інтерстиційну тканину та альвеоли. Кількість альвеолярних макрофагів значно збільшена, поряд із дистрофічно-деструктивними змінами зустрічаються окремі клітини з ознаками підвищеної функціональної активності. Ядра таких клітин неправильної форми з інвагінаціями ядерної оболонки, перинуклеарний простір дещо розширений. У цитоплазмі альвеолярних макрофагів відмічається значна кількість

лізосом, вільних рибосом, ліпідних включень. В клітинах наявні фагосоми, які містять різний, у тому числі пластинчастий осміофільний матеріал.

Ключові слова: легені, респіраторний відділ, експериментальна гостра ниркова недостатність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом НДР «Патогенетичні механізми розвитку змін в органах дихальної, ендокринної, нервової систем при змодельованих патологічних станах та їх корекція», № держ. реєстрації 0117U001758.

Вступ. Причиною синдрому гострого ушкодження легень може бути будь-яке захворювання, при якому у крові накопичується багато бактеріальних токсинів або ендогенних біологічно активних речовин, що провокують запальні реакції. У легеневих капілярах та інтерстиційній тканині збільшується кількість активованих лейкоцитів і тромбоцитів, які виділяють багато протеїназ, простагландинів, продуктів перекисного окиснення ліпідів, лейкотрієнів тощо, що пошкоджує альвеолярний епітелій та епітелій судин. Надходження великої кількості лейкоцитів призводить до інфільтрації паренхіми легень. Біологічно активні речовини різко підвищують судинну проникність, відбувається виражений перехід плазми і еритроцитів в альвеоли та інтерстиційну тканину із розвитком набряку. Виникає гіповентиляція альвеол на фоні значного дефіциту сурфактанту. Знижується еластичність стінки альвеол, що призводить до появи ателектазів, шунтування венозної крові в артеріальне русло, порушення перфузії, дифузії кисню та вуглекислого газу з розвитком гіпоксії, гіперкапнії.

Одним із таких захворювань є гостра ниркова недостатність (ГНН), яка незважаючи на високий рівень розвитку сучасної медицини, залишається актуальною проблемою з високим рівнем смертності, що становить 30-65% [1, 2, 3, 4]. При поєднанні ГНН з синдромом гострого ушкодження легень рівень смертності різко зростає, і наближається до 80% [5, 6, 7, 8]. Саме тому дана проблема є актуальною та потребує уваги науковців.

Метою роботи було вивчити особливості ультраструктурної реорганізації компонентів

респіраторного відділу легень при експериментальній ГНН.

Матеріал та методи дослідження. Експерименти виконані на 30-и білих статевозрілих щурасамцях з масою тіла 180-220 г. Утримання, виходування та евтаназія відповідали міжнародним вимогам щодо гуманного відношення до тварин відповідно біоетичним нормам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977 р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародному кодексу медичної етики (1983 р.) та законам України. Усі дослідження здійснювали під знеболенням кетаміном у дозі 40 мг/кг внутрішньом'язово.

ГНН у щурів моделювалась за допомогою внутрішньом'язового введення 50% гліцеролу в дозі 10 мл/кг маси тіла. Змодельована у такий спосіб ГНН за проявами близька до клінічних проявів у людей, і характеризується наростаючою інтоксикацією, різким порушенням клубочкової фільтрації та розладами мікроциркуляції [9].

Забір легеневої тканини для електронномікроскопічного дослідження проводився через 24 год після початку експерименту. При заборі матеріалу дотримані загальноприйняті правила швидкості висікання та атравматичності. Шматочки легеневої тканини розміром 1х1х1 мм, фіксували в 2,5% розчині глютаральдегіду на 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,4 протягом 1 години. Потім матеріал відмивали від фіксатора 0,1 М фосфатним буфером (рН-7,4). Дофіксацію проводили в 1% розчині чотириокису осмію з наступною дегідратацією в етиловому спирті зростаючих концентрацій. Після дегідратації тканинні блоки послідовно просочували у сумішах епоксидних смол з абсолютним ацетоном у різних співвідношеннях (по 1 год у кожній), після чого заливали чистою епоксидною смолою з наступною полімеризацією при температурі +56 °С протягом 1 доби.

Зрізи, отримані на ультрамікромомі «Tes1a BS-490», вивчали на електронному мікроскопі «ПЕМ-125К» при збільшеннях від 2000 до 20000 разів.

Результати дослідження та їх обговорення. Електронномікроскопічні дослідження компонентів респіраторного відділу легень через 24 год після моделювання ГНН встановили наявність змін дистрофічно-деструктивного характеру компонентів аерогематичного бар'єру. Зміни аналогічного характеру розвиваються і при інших патологічних станах: при опіковій хворобі, політравмі, сепсисі, панкреатиті, некваліфікованому проведенні штучної вентиляції легень [10, 11, 12, 13, 14].

Для альвеолоцитів I типу характерна поява ознак, що свідчать про виражену гіпергідратацію. Окремі альвеолоцити I типу містили вітрилоподібні випинання периферійної частини, відмічались локальні розриви плазмолем з виходом внутрішньоклітинних органел у просвіт альвеоли. Ядра переважно округлої форми з маргінально розташованим хроматином, ядерна оболонка мала нерівний контур за рахунок інвагінацій, перинуклеарний простір місцями розширений. У мітохондріях просвітлений матрикс та поодинокі редуковані гребені, спостерігалися явища часткової деструкції. Цистерни апарату Гольджі та каналці гранулярної ендоплазматичної сітки розширені, кількість рибосом значно зменшена. В периферичних ділянках збільшена кількість піноцитозних пухирців (рис. 1).

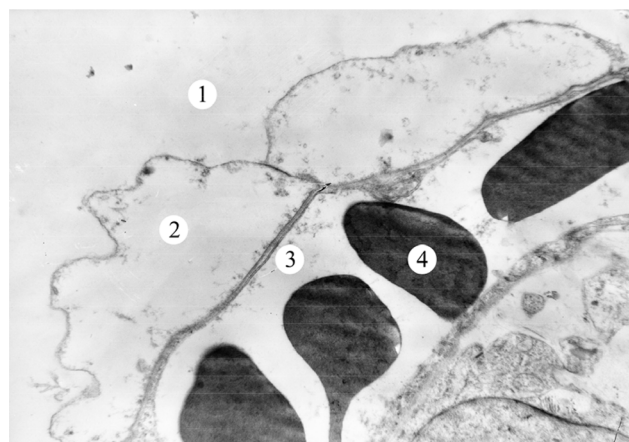


Рис. 1. Респіраторний відділ легень через 24 год після початку експерименту. 3Б.: х6400

Примітки: 1 – просвіт альвеоли; 2 – вітрилоподібні випинання периферійної частини альвеолоцита I типу; 3 – просвіт гемокапіляра; 4 – еритроцит.

В альвеолоцитах II типу також спостерігались ознаки набряку.

Ядра альвеолоцитів II типу переважно збільшені в розмірі, округлої форми та низької електронно-оптичної щільності, проте, траплялись і зменшені за розмірами, з нуклеоплазмою високої електронно-оптичної щільності. Ядерна оболонка утворює інвагінації. Мітохондрії збільшені за об'ємом, з поодинокими дезорганізованими та ушкодженими гребенями. Апарат Гольджі представлений везикулярно розширеними цистернами. Канальці і цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки значно розширені, деформовані, кількість зв'язаних рибосом з мембранами різко зменшена. На окремих ділянках відмічається фрагментація мембран гранулярної ендоплазматичної сітки. Кількість пластинчастих тілець збільшена, вони різної форми і величини. Базальна мембрана потовщена з нечіткими контурами. На поверхні альвеолоцитів II типу відмічаються мікроворсинки.

Накопичення набрякової рідини в альвеолоцитах II типу призводить до розриву плазмолемі і виходу внутрішньоклітинних структур у просвіт альвеоли. Ультраструктурні зміни інтерстицію свідчать про набряк альвеолярної стінки (рис. 2).



Рис. 2. Альвеолоцит II типу через 24 год після початку експерименту. Зб.: x6400

Примітки: 1 – просвіт альвеоли; 2 – просвіт гемокапіляра; 3 – ядро; 4 – мітохондрія; 5 – пластинчасте тільце; 6 – мультівезикулярне тільце; 7 – гранулярна ендоплазматична сітка.

В гемокапілярах альвеол характерним для даного періоду дослідження є поява еритроцитарних агрегатів та адгезії лейкоцитів, тромбоцитів (рис. 3).

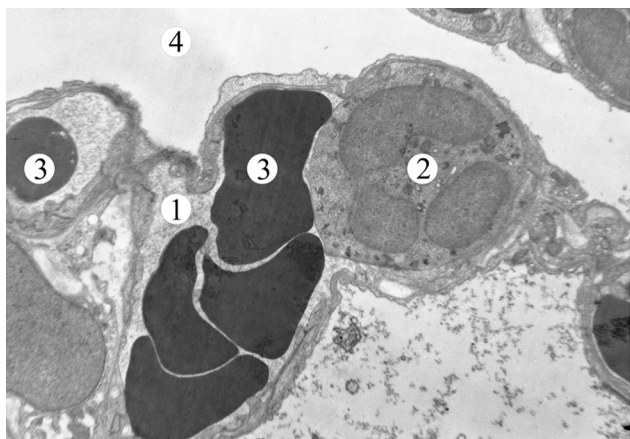


Рис. 3. Ультраструктурна організація гемокапілярів міжальвеолярної перегородки через 24 год після початку експерименту. Зб.: x4800

Примітки: 1 – просвіт гемокапіляра; 2 – лейкоцит; 3 – еритроцит; 4 – просвіт альвеоли.

Ендотеліоцити містять ядра округлої форми, збільшені за розмірами, гранули хроматину розміщуються переважно вздовж внутрішньої поверхні нуклеолемі, перинуклеарний простір на окремих ділянках значно розширений. Мітохондрії збільшені в об'ємі з матриксом низької електронно-оптичної щільності і дезорганізацією гребенів. Цистерни апарату Гольджі розширені, а каналці грану-

лярної ендоплазматичної сітки фрагментовані. Базальна мембрана кровоносних капілярів була нерівномірною, мала вузькі і потовщені ділянки. Внаслідок набряку ендотеліоцитів та агрегації формених елементів, просвіт деяких гемокапілярів закритий або різко звужений. Виражені порушення структурної організації компонентів аерогематичного бар'єру легень призводять до виходу формених елементів крові в інтерстиційну тканину та альвеоли.

Кількість альвеолярних макрофагів на 24 год експерименту значно збільшена, поряд із дистрофічно-деструктивними змінами зустрічаються окремі клітини з ознаками підвищеної функціональної активності (рис. 4). Ядра таких клітин неправильної форми з інвагінаціями ядерної оболонки, перинуклеарний простір дещо розширений. У апараті Гольджі помірно розширені цистерни, дрібні пухирці та вакуолі. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки гіпертрофовані, на мембранах якої спостерігається багато рибосом, ліпідні включення. Мітохондрії різної величини і форми. У цитоплазмі альвеолярних макрофагів відмічається також значна кількість лізосом і вільних рибосом. В клітинах наявні фагосоми, які містять різний, в тому числі пластинчастий осміофільний матеріал.

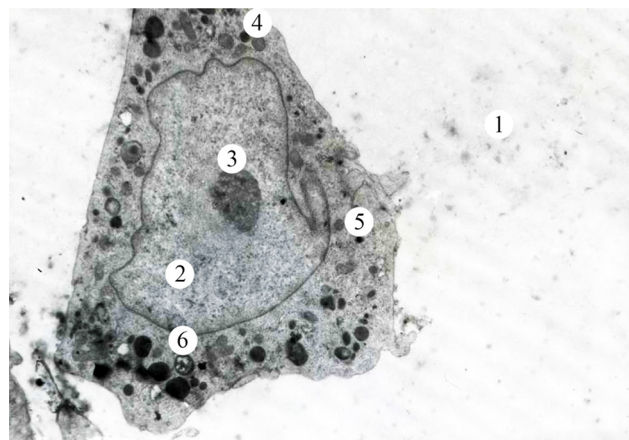


Рис. 4. Ультраструктура альвеолярного макрофага в стані підвищеної функціональної активності через 24 год після початку експерименту. Зб.: x4800

Примітки: 1 – просвіт альвеоли; 2 – ядро; 3 – ядерце; 4 – мітохондрія; 5 – лізосома; 6 – фагосома.

Висновки. Виявлені зміни на 24 год експерименту мають дистрофічно-деструктивний характер та проявляються розвитком набрякових явищ у альвеолоцитах I, II типів, альвеолярних макрофагах, ендотеліоцитах гемокапілярів.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи вираженість ультраструктурних змін, які розвиваються при експериментальній ГНН, доцільне подальше вивчення даної патології в динаміці з метою пошуку можливих методів профілактики та її своєчасної корекції.

References

1. Howrylak JM, Nakahira K. Inflammasomes: Key Mediators of Lung Immunity. *Annu Rev Physiol.* 2017; 79: 471-94. doi: 10.1146/annurev-physiol-021115-105229
2. Murtha LA, Schuilga MJ, Mabotuwana NS, Hardy SA, Waters DW, Burgess JK, et al. The processes and mechanisms of cardiac and pulmonary fibrosis. *Front Physiol.* 2017; 12(8): 777.
3. Riviello ED, Buregeya E, Twagirumugabe T. Diagnosing acute respiratory distress syndrome in resource limited settings: the Kigali modification of the Berlin definition. *Curr Opin Critt Care.* 2017; 23: 18-23. doi: 10.1097/MCC.0000000000000372
4. Shankar-Hari M, Fan E, Ferguson ND. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) phenotyping. *Intensive Care Med.* 2018; 45(4): 516-9. doi: 10.1007/s00134-018-5480-6
5. Domenech P, Perez T, Saldarini A, Uad P, Musso CG. Kidney-lung pathophysiological crosstalk: its characteristics and importance. *Int Urol Nephrol.* 2017; 49: 1211-15. doi: 10.1007/s11255-017-1585-z
6. Ma T, Liu X, Liu Z. Role of asymmetric dimethylarginine in rat acute lung injury induced by acute ischemic kidney injury. *Molecular medicine reports.* 2015; 12: 1923-8. doi: 10.3892/mmr.2015.3619
7. Malek M, Hassanshahi J, Fartootzadeh R, Azizi F, Shahidani S. Nephrogenic acute respiratory distress syndrome: a narrative review on pathophysiology and treatment. *Chinese J Traumat.* 2018; 21: 4-10.
8. Oztay F, Kara-Kisla B, Orhan N, Yanardag R, Bolkent S. The protective effects of prostaglandin E1 on lung injury following renal ischemia-reperfusion in rats. *Toxicology and Industrial Health.* 2016; 32(9): 1684-92. doi: 10.1177/0748233715576615
9. Rodrigo R, Trujillo S, Bosco C. Biochemical and ultrastructural lung damage induced by rhabdomyolysis in the rat. *Exp Biol Med.* 2006; 231: 1430-8. PMID: 16946412
10. Im D, Shi W, Driscoll B. Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome: Fibrosis versus Repair. *Front Pediatr.* 2016; 4: 28. doi: 10.3389/fped.2016.00028
11. Slutsky AS, Ranieri VM. Ventilator-Induced Lung Injury. *N Engl J Med.* 2013; 369: 2126-36. doi: 10.1056/NEJMral208707
12. Whitsett JA, Alenghat T. Respiratory epithelial cells orchestrate pulmonary innate immunity. *Nat Immunol.* 2014; 16(1): 27-35. doi: 10.1038/ni.3045
13. Zaiats LM, Kuz UV, Zukov W. Correction of the ultrastructural changes of the respiratory department of the lungs by phosphatidylcholine liposomes due to multiple skeletal trauma with osteosynthesis in the experimental study. *Journal of Education, Health and Sport.* 2018; 8(8): 293-301.
14. Perl M, Hohmann C, Denk S, Kellermann P, Lu D, Braumüller S, et al. Role of activated neutrophils in chest trauma-induced septic acute lung injury. *Shock.* 2012; 38(1): 98-106. doi: 10.1097/SHK.0b013e318254be6a

УДК 616-092.9+616.24+616.61-008.6+616-08

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ

АЭРОГЕМАТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ЧЕРЕЗ 24 ЧАСА

ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Клищ И. П.

Резюме. Целью работы было изучить особенности ультраструктурной реорганизации компонентов респираторного отдела легких при экспериментальной острой почечной недостаточности.

Материалы и методы. Результаты полученные в ходе эксперимента на половозрелых белых крысах-самцах с использованием электронно-микроскопического метода исследования. Были изучены особенности ультраструктурной реорганизации компонентов респираторного отдела легких при экспериментальной острой почечной недостаточности.

Результаты и выводы. Установлено, что изменения дистрофически-деструктивного характера присутствуют уже через 24 часа эксперимента и проявляются развитием отечных явлений в альвеолоцитах I, II типов, альвеолярных макрофагах, эндотелиоцитах гемокапилляров. Также увеличение проницаемости стенок гемокапилляров способствует развитию интерстициального и внутриальвеолярного отеков. Отдельные альвеолоциты I типа содержали парусообразные выпирания периферической части. Количество пластинчатых телец увеличено, они разной формы и величины. На поверхности альвеолоцитов II типа отмечаются микроворсинки.

Накопление отечной жидкости в альвеолоцитах I, II типов приводит к разрывам плазмолеммы и выходу внутриклеточных структур в просвет альвеол. В просветах гемокапилляров встречаются эритроцитарные агрегаты, явления адгезии и агрегации лейкоцитов и тромбоцитов. В следствии отека эндотелиоцитов и агрегации форменных элементов крови, в отдельных местах можно наблюдать перекрывания или резкое сужение просвета гемокапилляра. Базальная мембрана характеризуется не

четкими контурами и утолщением на всем протяжении. Выраженные нарушения структурной организации компонентов аэрогематического барьера легких приводят к выходу форменных элементов крови в интерстициальную ткань и альвеолы. Количество альвеолярных макрофагов значительно увеличено, наряду с дистрофически-деструктивными изменениями встречаются отдельные клетки с признаками повышенной функциональной активности. Ядра таких клеток неправильной формы с инвагинациями ядерной оболочки, перинуклеарное пространство несколько расширено. В цитоплазме альвеолярных макрофагов отмечается значительное количество лизосом, свободных рибосом, липидные включения. В клетках имеются фагосомы, содержащие разный, в том числе пластинчатый осмиофильный материал.

Ключевые слова: легкие, респираторный отдел, экспериментальная острая почечная недостаточность.

UDC 616-092.9+616.24+616.61-008.6+616-08

Histological Changes in the Components of Aerogematic Barrier in 24 Hours after Modeling of Acute Renal Failure

Klishch I. P.

Abstract. Nowadays, acute renal failure remains one of the most complex problems in modern medicine. Multiple studies have proved that acute renal failure is frequently accompanied by the development of acute lung injury and its most severe form – acute respiratory distress syndrome. According to the literature, lethality in case of acute lung injury or acute respiratory distress syndrome is extremely high and is 30-65%. In case of combination of acute renal failure and acute lung injury or acute respiratory distress syndrome, the most frequently observed in critical patients, lethality reaches 80%.

The purpose of the study was to study the possibility of ultrastructural changes of the respiratory tract in the lungs due to experimental modeling of acute renal failure.

Materials and methods. The experiments were performed on 30 mature white male rats weighting 180-220 grams. Acute renal failure was induced by intramuscular administration of 50% glycerol water solution in dose of 10 ml per 1 kg of body mass. The sampling of lung tissue for electron microscopy study was carried out under the ketamine anaesthesia in 24 hours after beginning of the experiment. The pieces of lung tissue were fixed in 2.5% solution of gluteraldehyde with further postfixation in 1% solution of osmium tetroxide. After dehydration, the material was poured over epon araldite. The cuts, obtained on ultramicrotome “Tesla BS-490”, were studied using electron microscope “PEM-125K”.

Results and discussion. In 24 hours after the beginning of the experiment, the changes in the alveolocytotypes of types I and II, endotheliocytes, alveolar macrophages are accompanied by the development of intracellular edema with ultrastructural disorder of organelles. Because of endotheliocytes edema and aggregation of forming blood elements, some blood capillaries lumens are closed or drastically narrowed. In some blood capillaries, we observe disorder of the luminal membrane integrity of endothelial cells accompanied by exit of the intracellular content into the micro blood vessel lumen. The expressed disorders of structural organization of the components of pulmonary aero-hematic barrier cause the exit of forming blood elements into the interstitial tissue and alveoli.

Conclusion. The detected changes in 24 hours of the experiment have a dystrophic-destructive character and are manifested by the development of edema in alveolocytotypes of types I and II, alveolar macrophages, endotheliocytes of hemocapillaries.

Perspective for further research. Considering the severity of ultrastructural changes that develop in experimental acute renal failure, it would be reasonable to conduct a further study in order to find possible methods of prevention and timely correction.

Keywords: lungs, respiratory part, experimental acute renal failure.

ORCID and contributionship:

Iryna P. Klishch: 0000-0001-6616-1980 ^{A,B,C,D,E,F}

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,
C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,
E – Critical review, F – Final approval of the article

CORRESPONDING AUTHOR

Iryna P. Klishch

Ivano-Frankivsk National Medical University,
Pathophysiology Department
2, Hrushevskoho St., Ivano-Frankivsk 76000, Ukraine
tel: +380977635707, e-meil: ira181281@ukr.net

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Received: 02.04.2021 p.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування