

**В.І. Чергінець,  
С.І.Льченко**

## **ПОРУШЕННЯ В ЛЕГЕНЯХ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПЕРОКСІЇ**

*Дніпропетровська державна медична академія  
кафедра пропедевтики дитячих хвороб  
(зав. - д. мед. н., проф. К.Д.Дука)*

**Ключові слова:** новонароджені щурі, нормобарична гіпероксія, бронхолегенева дисплазія  
**Key words:** newborn rats, normobaric hyperoxia, bronchopulmonary dysplasia

**Резюме.** Актуальною проблемою дитячої пульмонології є бронхолегочна дисплазія (БЛД), особливості її розвитку в сучасних умовах надання реанімаційної допомоги новонародженим. Клініко-морфологічні характеристики «нової» форми БЛД у дітей залишаються малоизученими. Проведено експериментальне дослідження по вивченню патоморфологічного впливу нормобаричної гіпероксії на стан легень у новонароджених щурів. Отримані результати підтверджують, що гіпероксія сприяє пошкодженню легочної тканини в формі затримки альвеологенезу та розвитку нейтрофільного альвеоліту. Підтверджено топичну нерівномірність ураження легочної тканини через різні терміни її дозрівання. Отримані дані можуть бути корисними в практичній медицині для удосконалення лікувально-діагностичної допомоги дітям, що перебувають на тривалій терапії киснем.

**Summary.** Bronchopulmonary dysplasia (BPD), features of its development in modern conditions of rendering resuscitation help to newborns is an actual problem of children's pulmonology. Clinical and morphological characteristics of "new" BPD forms in children remain poorly studied. The experimental research of pathomorphological actions of normobaric hyperoxia on condition of the lungs in newborn rats was carried out. The received results confirm that hyperoxia promotes damage to pulmonary tissue in the form of alveogenesis delay and development of neutrophilic alveolitis. Topical non-uniformity of pulmonary tissue lesion caused by different terms of its maturation is confirmed. The obtained data may be useful in practical medicine for improvement of medical-diagnostic help, given to children at long-term oxygen therapy.

Однією з сучасних проблем дитячої пульмонології є бронхолегенева дисплазія (БЛД), що виникає у новонароджених дітей після ШВЛ або довготривалої терапії киснем. Вивчення патофізіології формування незворотних змін у легенях таких дітей повинно покращити профілактику розвитку БЛД, яка на сьогодні є хронічною обструктивною хворобою легень дитячого віку з високим рівнем подальшої інвалідації [1-3, 5,15]. Сучасну БЛД розглядають як поліетіологічне захворювання. До факторів, що сприяють розвитку БЛД, відносять: незрілість легеневої тканини, токсичну дію кисню, баротравму, інфекцію, набряк легень, легеневу гіпертензію, спадкову схильність, гіповітаміноз Е. Частку патогенетичного значення кожного з цих факторів на сьогодні не визначено [5,15]. Маловивченими залишаються патоморфологічні та клініко-рентгенологічні характеристики «нової» форми БЛД, що відрізняється від класичної менш тяжким, але прогресуючим перебігом. Гіпероксидне пошкодження легень, за резуль-

татами деяких експериментальних робіт [6,8-10,12], призводить до некрозу епітелію дихальних шляхів, ендотелію легеневих капілярів та трансформації альвеолоцитів II типу в альвеолоцити I типу.

Виявлено взаємозв'язок між біохімічними маркерами оксидативного стресу і подальшим розвитком БЛД у дітей. Дослідники вважають, що навіть короткочасна гіпероксія у новонароджених спричинює потенційно небезпечний оксидативний стрес, що пояснюється незрілістю їх антиоксидантної системи та призводить до хронічного запалення [14].

Результати наших досліджень по вивченню анамнезу дітей з БЛД та особливостей її клінічного перебігу також свідчили про випадки формування хвороби у дітей, що в неонатальний період отримували тільки тривалу кисневу терапію. На сьогодні вирішення питання про ймовірність формування «нових» клінічних форм БЛД, на тлі відсутності баротравми від ШВЛ, є актуальним для удосконалення прото-

колів діагностики та лікування дітей із даною патологією.

Отже, метою експериментального дослідження була перевірка гіпотези можливості виникнення типових для БЛД патоморфологічних змін у легенях новонароджених щурів в умовах нормобаричної гіпероксії.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на 16 доношених новонароджених щурах лінії Вістар, гестаційний вік 21-23 доби. Експозиція кисню проводилась з моменту народження безперервно протягом 7 діб, використовуючи метод Bruse M.C. [9]. Тварин було розміщено в пластикову коробку розміром 60×45×25 см. Кисень проходив через ротаметр, що дозволяло регулювати швидкість газового потоку ( $\leq 1$  л/хв). Концентрація кисню в камері підтримувалась в межах  $52 \pm 7\%$  (для контролю використовували газоаналізатор ПКГ-4-К, ЄвроЛаб, Росія). В ході дослідження спостерігали за поведінкою тварин. Тварин виводили з експерименту на 8 добу, що приблизно відповідає закінченню їх періоду новонародженості. Групу порівняння склали 5 новонароджених щурів, що дихали з моменту народження повітрям.

Торакотомію проводили після евтаназії (до-тримувались загальних правил біоетики, використовували метод передозування наркозу). Легені промивались фізіологічним розчином, зважувались, фіксувались в 10% формаліні, потім, після дегідратації, поміщались у парафін. Зрізи робили за допомогою мікротому у сагітальному напрямленні від центру блоку товщиною 5 мкм, аналізували не менш ніж по 5 примірників у одного щура. Забарвлення гістологічних зрізів проводили гематоксином та еозином. У кінці роботи було мікрофотографування (збільшення в 40 та 100 разів), опис отриманих результатів. Статистична обробка даних проводилась із використанням програми "Statistica v. 6" з визначенням загальних параметричних та непараметричних показників.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Поведінка тварин характеризувалась незначним збудженням у першу добу після початку гіпероксії, у наступні дні тварини були відносно спокійними. Протягом всього експерименту новонароджені годувались молоком самки. Всі тварини залишались живими до кінця експерименту.

Проналізовано 80 зразків гістологічного матеріалу новонароджених щурів, що знаходились в умовах нормобаричної гіпероксії. Морфомет-

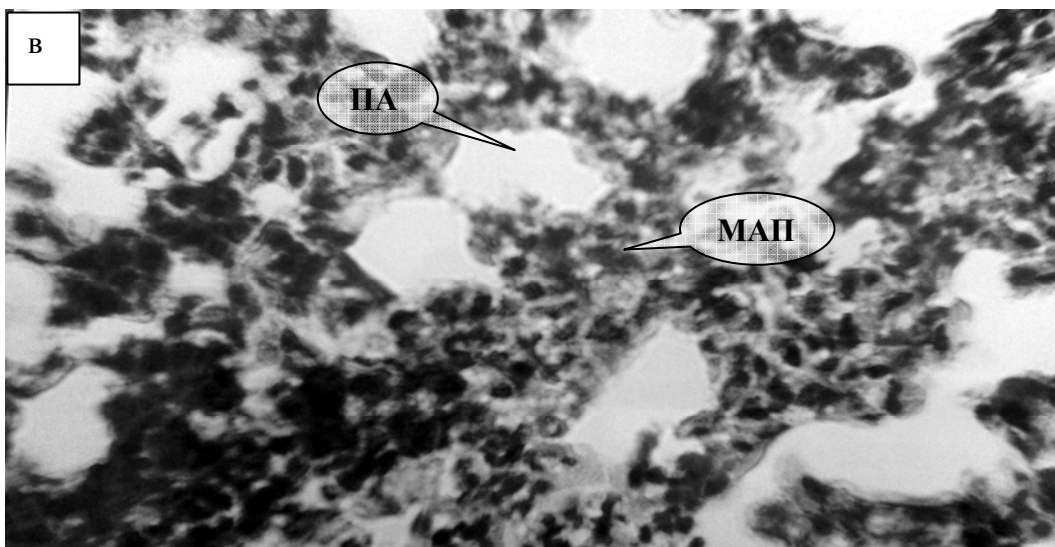
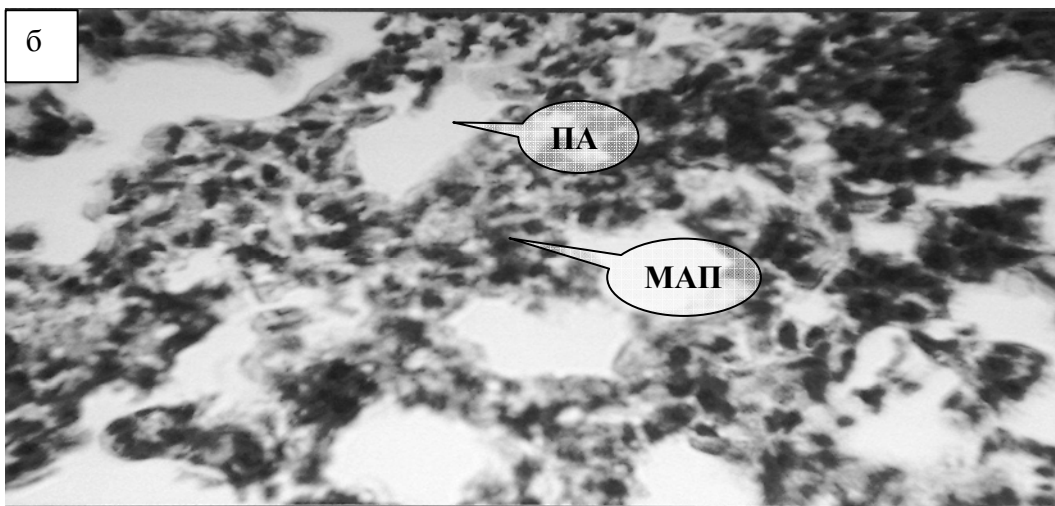
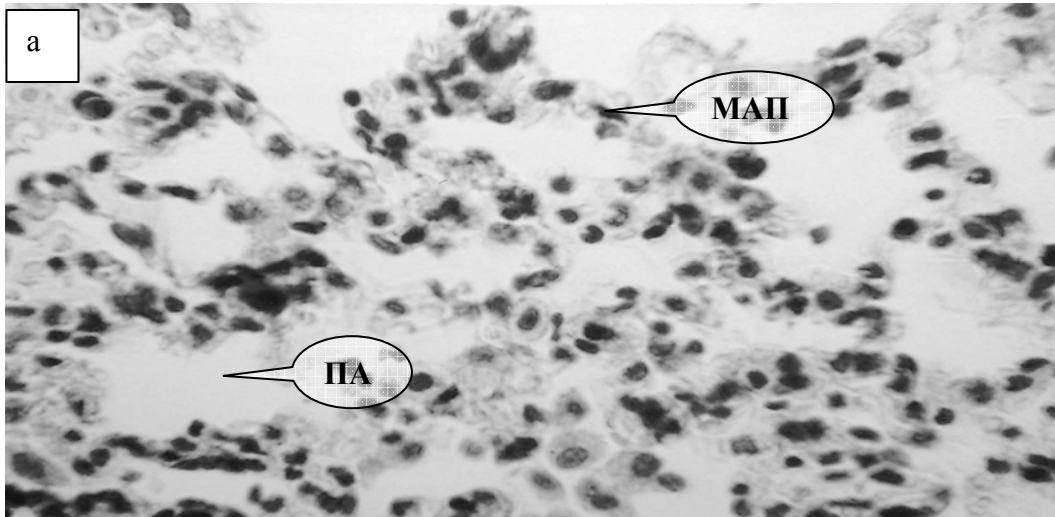
ричний аналіз показав, що середня товщина альвеолярної перегородки у дослідних тварин була  $0,26 \pm 0,012$  мм, у тварин із групи контролю -  $0,087 \pm 0,013$  мм, що вірогідно відрізнялось ( $p < 0,001$ ).

Ці морфологічні зміни свідчили, в першу чергу, про затримку розвитку альвеол. Версія затримки альвеоогенезу підтримувалась і наявністю більшої кількості, в порівнянні з контролем ( $p < 0,05$ ), недорозвинутих альвеол (альвеолярних ходів). Крім того, в усіх зразках спостерігались ознаки запалення у вигляді інфільтрації альвеолярних перегородок нейтрофілами. В легенях тварин, що дихали киснем, ателектази та ознаки фіброзу не знайдено.

Фотографії гістологічного матеріалу надано на рис. (а,б,в), де наочно видно різницю між контрольними (а) та дослідними (б,в) тваринами, як за кількістю альвеол у полі зору, так і за товщиною міжальвеолярних перегородок. Інтенсивність та щільність забарвлення легеневої тканини щурів свідчить про наявність клітинної інфільтрації, переважно нейтрофілами. Ці зміни співпадають із морфологічними ознаками «нової» форми БЛД у дітей, що формується в умовах дії сучасної, менш травматичної, реанімаційної підтримки новонароджених. Ця форма характеризується, за даними F. Reiterer та співавт. (2006), гістологічними особливостями: затримкою альвеоогенезу, інфільтрацією легеневого інтерстицію клітинами запалення та мінімальним фіброзом. У порівнянні, класична БЛД характеризується ураженням дрібних бронхів, епітеліальною метаплазією, помірною гіперплазією гладкої мускулатури, фіброзом паренхіми та емфіземою. На сьогодні відомо, що кисень може ініціювати розвиток нейтрофільного альвеоліту шляхом гуморальної активації хемокінів [7, 9, 11, 13].

Порівняння гістологічних зразків із різних частин легень показало, що порушення нерівномірні. Вірогідно частіше ( $p < 0,05$ ) патологічні ознаки зустрічались у верхніх частках обох легень та в середній частці справа. Це співпадає з даними других авторів та свідчить про різну швидкість дозрівання легень (більш розвинутими на момент народження бувають нижні долі) [1]. Отримані дані пояснюють і клініко-рентгенологічні особливості дітей з БЛД, що спостерігались нами у клініці. Частіше фіксувались ураження правої легені, сітчаста деформація рисунку, за даними рентгенографії, переважно в верхніх відділах легень ( $p < 0,05$ ).

Аналіз гістологічного матеріалу тварин, що з народження дихали повітрям, показав нормальну архітектуру легеневої тканини. Клітинна інфільтрація була відсутня (рис. а).



Легені новонароджених щурів: а – з контрольної групи, б та в – з групи, що зазнала нормобаричної гіпероксії (ПА-просвіт альвеоли, МАП - міжальвеолярна перегородка, забарвлення гематоксиліном та еозином,  $\times 100$  разів )

### ПІДСУМОК

Проведене дослідження по вивченню патоморфологічної дії нормобаричної гіпероксії на стан легень у новонароджених щурів доводить можливість розвитку диспластичних порушень на тлі затримки альвеологенезу та нейтрофільного альвеоліту, в умовах відсутності баротравми (у клініці це може бути киснева терапія взагалі без ШВЛ або з високочастотною, малотравматичною ШВЛ). Підтверджено топічну не

рівномірність ураження легеневої тканини через різні терміни її дозрівання, що повинно враховуватись при клінічному обстеженні хворих на БЛД дітей. Питання щодо наслідків дії сучасних ендогенних факторів на легені новонароджених потребує подальшого вивчення (наприклад, їх зворотність, можливість профілактики) та осмислення.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Т.В. Обследование конечного респираторного тракта для определения соответствия легких сроку гестации в перинатальном периоде. Норма // Архив патологии. - 1994. - №2. - С. 69-73.
2. Богданова А.В., Бойцова Е.В. Клиника, принципы терапии и исходы бронхолегочной дисплазии // РМЖ- 2002.- Т10, №5. – С.262-264.
3. Клинические особенности и течение бронхолегочной дисплазии / Богданова А.В., Бойцова Е.В., Старевская С.В. [и др.] // Пульмонология. – 2002. - №1.- С. 28-32.
4. Овсянников Д.Ю., Петрук Н.И., Кузьменко Л.Г. Бронхолегочная дисплазия у детей // Педиатрия. – 2004. - №1. – С. 91-94.
5. Bush A., Tiddens H., Silverman M. Clinical implications of inflammation in young children // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – Vol 162.- P. 11-14.
6. Chang Ling-Yi, L.A catalytic antioxidant attenuates alveolar structural remodeling in bronchopulmonary dysplasia // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2003. – Vol 167.-P. 57-64.
7. De Dooy J.J., Mahieu L.M., van Bever H.P. The role of inflammation in the development of chronic lung disease in neonates // Eur. J. Pediatr. – 2001. – Vol. 160.- P.457-463.
8. Euming Chong. Changing use of surfactant over 6 years and its relationship to chronic lung disease // Pediatrics. – 2008. – Vol. 122, N 4. – P. 917-921.
9. Hui Deng, S. Nicholas Mason, Richard L. Auten Lung inflammation in hyperoxia can be prevented by antichemokine treatment in newborn rats // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – Vol 162. - P. 2316-2323.
10. Jobe A.H., Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – Vol. 163.- P.1723-1729.
11. Jobe A.H., Ikegami M. Prevention of bronchopulmonary dysplasia // Curr. Opin. Pediatr. – 2001. – Vol. 13. – P.124-129.
12. Lung injury in neonates: causes, strategies for prevention, and long-term consequences/ Clark, R.H., Gerstmann, D.R., Jobe, A.H., Moffitt [et al.] // J. Pediatr. – 2001. – Vol. 139.-P.478-486.
13. Papoff P. Infection, neutrophils, and hematopoietic growth factors in the pathogenesis of neonatal chronic lung disease // Clin. Perinatol. – 2000. – Vol. 27.- P.717-731.
14. Preterm Resuscitation With Low Oxygen Causes Less Oxidative Stress, Inflammation, and Chronic Lung Disease/ Vento M., Moro M., Escrig R. [et al.] // Pediatrics.- 2009. – Vol. 124. – P.439-449.
15. Tanswell A., Keith, Jankov, Robert P. Bronchopulmonary Dysplasia. One Disease or Two? // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 167.-P. 1-6.

