

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ НА РАННІХ СТАДІЯХ ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ЛЕГЕНЬ**

**ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського**

**МОЗ України» (м. Тернопіль)**

Дане дослідження є частиною комплексної науково-дослідної роботи «Експериментальне дослідження закономірностей апоптозу в умовах тяжкої комбінованої травми», № держ.реєстрації 01107U001938.

**Вступ.** У більшості хворих розвиток синдрому гострого ураження легень пов'язують із наявністю легеневих і позалегевених уражень. Найчастішою причиною є пневмонія, важкий сепсис, аспірація шлункового вмісту, кровотеча і шок внаслідок великої травми [5, 6, 9]. З поліпшенням лікування смертність хворих з гострим респіраторним дистрес-синдромом у США за останні роки знизилася до 35-40 %. Приблизно 10 % всіх пацієнтів відділень інтенсивної терапії страждають від гострої дихальної недостатності, 20 % серед яких підходять під критерії гострого ураження легень (ГУЛ) або гострого респіраторного дистрес-синдрому [7].

У вітчизняній та зарубіжній літературі недостатньо висвітлені питання мікроскопічних змін легень у різні етапи ГУЛ внаслідок аспірації, що є важливим для вибору тактики лікування та обумовлює актуальність даного дослідження.

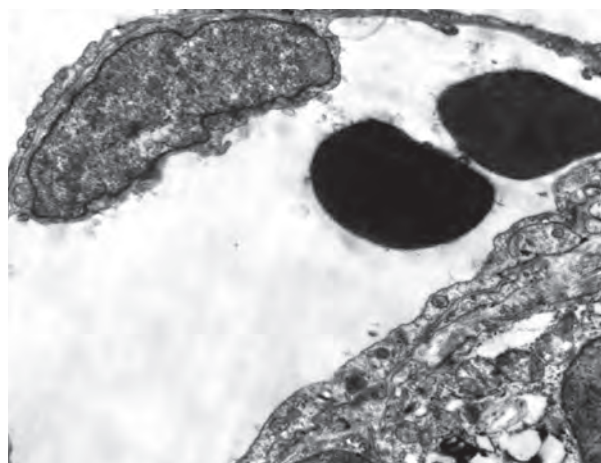
**Мета дослідження** - з'ясувати мікроскопічні зміни в легенях при експериментальному ГУЛ через 2 та 6 годин.

**Об'єкт і методи дослідження.** Досліди були проведені на 60 білих статевозрілих нелінійних щурах масою 200-220 г, що утримувались на стандартному раціоні виварію Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського. Тварин розділили на 3 експериментальні групи: 1-ша – контрольна група (n=12), 2-га – моделювання ГУЛ, спостереження через 2 год (n=12), 3-тя – моделювання ГУЛ, спостереження через 6 год (n=12). Усі втручання проводили з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Для дослідження вибрали нейтрофіл-залежну експериментальну модель ГУЛ з інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, рН 1,2 в дозі 1,0 мл/кг на вдиху [4]. Після закінчення експерименту всі тварини піддавалися евтаназії. Забір та вірізка матеріалу для електронно-мікроскопічного

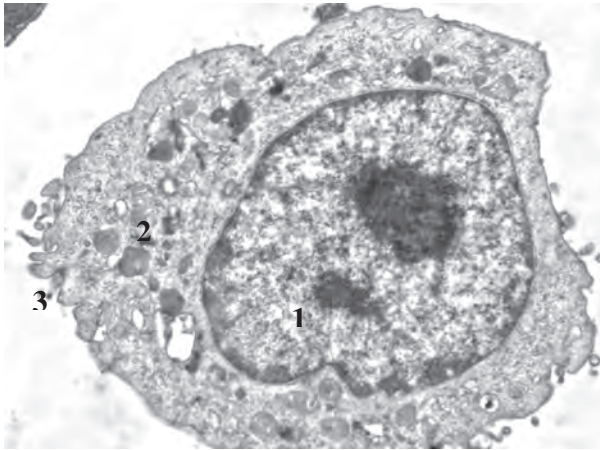
дослідження здійснювались у тварин у найкоротший термін через 2 та 6 години після ураження.

Для електронномікроскопічних досліджень забирали маленькі шматочки респіраторного відділу легень, з крайових часток. матеріал фіксували у 2,5% розчині глутаральдегіду, постфіксували 1% розчином тетраоксиду осмію на фосфатному буфері, зневоднювали в спиртах і ацетоні та заливали в суміш аралдиту з епоксидними смолами [2]. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікротомі LKB-3, контрастували уранілацетатом та цитратом свинцю за методом Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

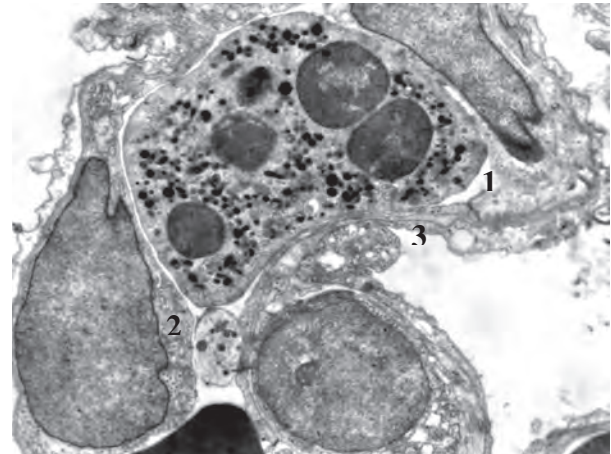
**Результати досліджень та їх обговорення.** Проведені електронно-мікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень через 2 години після дії гідрохлоридної кислоти встановили, що для альвеол характерні реактивні зміни. Це проявляється розширенням і кровонаповненням просвітів кровоносних капілярів, в яких наявні форменні елементи крові: еритроцити, лімфоцити, тромбоцити, окремі можуть щільно прилягати до плазмолемі ендотеліоцитів.



**Рис. 1.** Ультраструктура альвеоли через 2 години при експериментальному гострому ураженні легень. Широкий просвіт гемокapіляра з еритроцитами (1), ядро ендотеліоцита (2), тонкий аерогематичний бар'єр (3), ділянка його набряку (4). x 5 000.



**Рис. 2.** Субмікроскопічна організація альвеолярно-го макрофага через 2 години експериментального гострого ураження легень. Ядро (1), первинні і вторинні лізосоми (2), цитоплазматичні вирости (3). x 7 000.



**Рис. 3.** Субмікроскопічні зміни альвеоли через 6 годин при експериментальному гострому ураженні легень. Просвіт гемокапіляра з форменими елементами крові (1), ендотеліоцит (2), аерогематичний бар'єр (3). x 6 000.

У цей термін досліду (2-га дослідна група) помірно змінюється структурна організація компонентів аерогематичного бар'єру (АГБ). Базальна мембрана на окремих ділянках витончена, на окремих втрачає чіткість. Альвеолярний епітелій має як тонкі електроннощільні, так і місцями потовщені, просвітлені цитоплазматичні ділянки альвеолоцитів 1 типу. У таких ділянках плазмолема стає хвилястою, утворює вип'ячування. Ядра ендотеліоцитів і респіраторних епітеліоцитів мають подовгасту форму, з невеликими інвагінаціями каріолеми. В їх каріоплазмі переважає еухроматин, ядерця спостерігаються рідко (**рис. 1**).

В цитоплазмі ендотеліоцитів і респіраторних епітеліоцитів органел мало, вони локалізовані у парануклеарних ділянках цитоплазми, зменшується кількість піноцитозних пухирців.

В легенях 2-гої дослідної групи змінюється також ультраструктура альвеолоцитів 2 типу. Ядра багатьох клітин виглядають ущільненими, в каріоплазмі зростає вміст гетерохроматину. Осміофільні його ділянки мають вигляд невеликих грудок, а в основному гетерохроматин розміщений біля внутрішньої ядерної мембрани. Перинуклеарний простір відносно рівномірний, наявні окремі його розширення, ядерних пор в каріолемі мало.

У цитоплазмі таких клітин слоїстих тілець небагато, вони крупні, мають більше світлих ніж осміофільних слоїстих ділянок. Можливо це пов'язано з виходом секрету і для підтримки стану сурфактанту на поверхні альвеол. Частина мітохондрій гіпертрофована, має локально просвітлений матрикс і пошкоджені кристи. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки непротяжні, більша їх частина з вузькими просвітами, а тільки окремі ділянки потовщені. На поверхні їх мембран мало рибосом. У диктіосомах комплексу Гольджі мало цистерн і вакуолей. Такий стан органел, що забезпечують секреторний

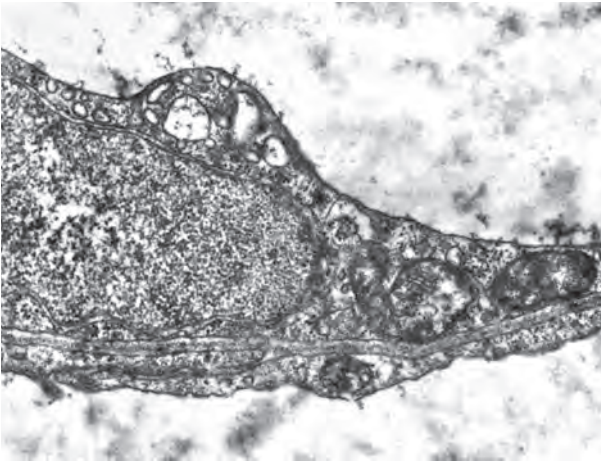
процес у альвеолоцитах другого типу, свідчить про пригнічення вироблення сурфактанту. Апікальна ділянка плазмолемі клітин має мікрворсинки, але вони невисокі

Субмікроскопічно встановлено, що альвеолярні макрофаги в цей термін досліду мають структурні ознаки функціональної активності. Ядра макрофагів округлої форми, мають окремі неглибокі інвагінації каріолеми, в каріоплазмі визначається ядерце та невеликі грудки гетерохроматину. В цитоплазмі таких клітин спостерігаються первинні і вторинні лізосоми, а також крупні фагосоми. Плазмолема макрофагів нерівна, утворює випинання, мікрывирости та інвагінації, які сприяють процесу фагоцитозу (**рис. 2**).

Субмікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень при експериментальному ГУЛ і, проведені через 6 годин показали, що багато альвеол мають широкі просвіти кровоносних капілярів, які виповнені форменими елементами крові. Наявні еритроцити, сегментоядерні нейтрофіли, тромбоцити, лімфоцити. Ядра ендотеліоцитів і респіраторних альвеолоцитів зміненої форми за рахунок інвагінацій, що утворені каріолемою.

Аерогематичний бар'єр має потовщену нерівну стінку. Встановлений набряк і просвітлення цитоплазматичної ділянки респіраторних епітеліоцитів майже на всій поверхні альвеол у тварин 3-ої експериментальної групи. Їх плазмолема хвиляста за рахунок нерівномірного потовщення цитоплазми. В ній мало піноцитозних пухирців, є окремі вакуолі, а органели нечисленні і деструктивно змінені. Товщина базальної мембрани нерівномірна, наявні локально потовщені її ділянки, вузькі, а також нечітко контуровані.

Цитоплазматична частина ендотеліальних клітин також має різну товщину, утворює вип'ячування в просвіт кров'яного капіляра (**рис. 3**).



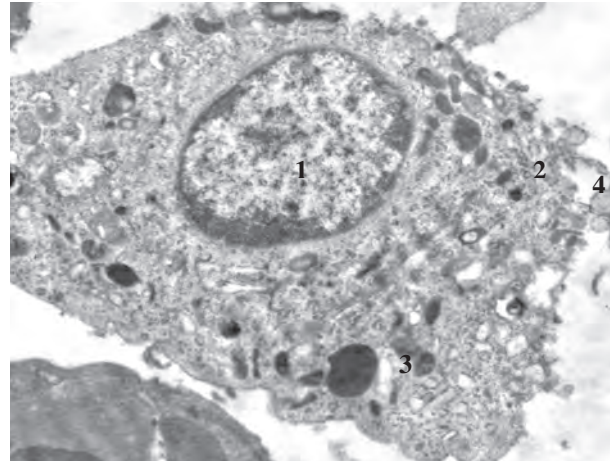
**Рис. 4.** Фрагмент альвеоли через 6 годин при експериментальному гострому ураженні легень. Ядро ендотеліоцита (1), змінені органели у цитоплазмі (2), цитоплазматична ділянка альвеолоцита I типу (3). x 25 000.

В цитоплазмі ендотеліоцитів наявні деструктивно змінені органели. Гіпертрофовані мітохондрії мають вогнищево просвітлений матрикс Зруйновані кристи. Короткі каналці ендоплазматичної сітки розширені, рибосом мало. Спостерігаються вакуолеподібні структури, кавеол і піноцитозних пухирців небагато (рис. 4).

Для ультраструктури альвеолоцитів II типу тварин 3-ої дослідної групи характерні ядра з нерівними контурами каріолеми. Гетерохроматин утворює скупчення або розташований вздовж каріолеми. В цитоплазмі на місці її пластинчастих тілець наявні електроннопрозорі округлі вакуолеподібні структури, осміофільний слоїстий матеріал має невеликій об'єм і розташований по периферії. Нечисленні мітохондрії гіпертрофовані, мають гомогенний матрикс у якому кристи погано виявляються. Канальців гранулярної ендоплазматичної сітки небагато, вони частково розширені, а на поверхні їх мембран мало рибосом. Цистерни в диктіосомах комплексу Гольджі поодинокі. На апікальній частині клітин плазмалема має малі мікрворсинки, більша частина її оголена. Такий стан секреторних альвеолоцитів відповідає пригніченню їх функції.

Ультраструктура альвеолярних макрофагів свідчить про їх фагоцитарну активність. В цитоплазмі таких макрофагів наявні первинні осміофільні лізосоми, крупні вторинні фагосоми. Частина органел деструктивно змінена. Округлі ядра виглядають зменшеними, нечіткі контури мембран каріолеми, ділянки гетерохроматину в каріоплазмі. Цитоплазматичні вирости спостерігаються на окремих ділянках поверхні, плазмалема в них нечітка, розрихлена (рис.5).

До компенсаторно-приспосувальних процесів у перші 2 години експерименту можна віднести повнокрівя капілярів без розвитку агрегації еритроцитів, розширення альвеол без ознак здавлення



**Рис. 5.** Субмікроскопічна організація альвеолярного макрофага через 6 годин при експериментальному гострому ураженні легень. Невелике ядро (1), первинні (2) і вторинні (3) лізосоми, цитоплазматичні вирости (4). x 5 000.

капілярів у міжальвеолярних перетинках, притік нейтрофілів і макрофагів як фактор клітинного захисту, що попереджає генералізацію ураження. Проте, вже в першій стадії ГУЛ пригнічується вироблення сурфактанту внаслідок дистрофічних і деструктивних змін альвеолоцитів II типу, а також можливого ушкодження інтраальвеолярного пула сурфактанту легень гідрохлоридною кислотою, який проникає через структури АГБ, що зумовлює розвиток гіпоксії.

Ультрамікроскопічні зміни через 6 год. експериментального ГУЛ також свідчать про подальше посилення порушень мікроциркуляції та виявів дистрофічних, а також деструктивних і некротичних змін у клітинах, та прогресування гіпоксії. Кількість альвеолярних макрофагів у просвіті альвеол невелика й в основному представлена активними в функціональному відношенні формами, що свідчить про активізацію системи місцевого захисту легень [1].

Встановлено, що в умовах гіпоксії відстань між ендотеліоцитами збільшується, що призводить до розвитку інтерстиційного та альвеолярного набряку [3], що може бути обумовлене викидом катехоламінів та глюкокортикоїдів у відповідь на стрес, індукований екзогенними чи ендогенними факторами, зокрема, введенням гідрохлоридної кислоти, що підтверджується іншими дослідженнями [8].

**Висновки.** Дані ультраструктурного аналізу респіраторного відділу легень свідчать про те, що протягом перших 6-ти годин ГУЛ, індукованого інтра-трахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, відмічено комплекс змін, які мають як компенсаторну, так дистрофічно-деструктивну спрямованість.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується продовження вивчення ультраструктурних змін легень при ГУЛ, індукованому інтра-трахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, через 12 і 24 години як віддалені наслідки дії патологічного чинника.



**Список літератури**

1. Горовая Э.В. Сурфактант легких и альвеолярные макрофаги новорожденных при воздействии внутриутробной гипоксии в эксперименте / Э.В. Горовая // Таврический медико-биологический вестник. – 1999. – № 1–2. – С. 94–97.
2. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
3. Dembling R.H. The pathogenesis of respiratory failure after trauma and sepsis / R.H. Dembling // Surg. Clin. North Amer. – 1980. – Vol. 60 (4). – P. 1373–1390.
4. Matute-Bello G. Animal models of acute lung injury / G. Matute-Bello, C. Frevert, T. Martin // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2008. – V. 295. – P. 379–399.
5. Pediatric acute lung injury: prospective evaluation of risk factors associated with mortality / H.R. Flori, D.V. Glidden, G.W. Rutherford, M.A. Matthay // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2005. – Vol. 171. – P. 995–1001.
6. Randolph A.G. Management of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in children / A.G. Randolph // Crit. Care Med. – 2009. – Vol. 37. – P. 2448–2454.
7. Rubenfeld G.D. Epidemiology and outcomes of acute lung injury / G.D. Rubenfeld, M.S. Herridge // Chest. – 2007. – Vol. 131, № 2. – P. 554–562.
8. The role of cytokines in the development of the pneumonia after aorto-coronary bypass at patients with ischemic heart disease / E. V. Markelova, E. P. Turmova, A. A. Silaev [et al.] // Pacific Medical Journal. – 2006. – № 2. – P. 35–37.
9. Ware L.B. The acute respiratory distress syndrome / L.B. Ware, M.A. Matthay // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 342. – P. 1334–1349.

**УДК 616.24-031.84-092]-092.9**

**УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ НА РАННІХ СТАДІЯХ ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ЛЕГЕНЬ**

**Марущак М.І., Волков К.С., Ярема Н.І.**

**Резюме.** Наведені результати ультраструктурних змін легень при експериментальному гострому ураженні легень через 2 та 6 годин. Встановлено, що в першій стадії гострого ураження легень пригнічується вироблення сурфактанту внаслідок дистрофічних і деструктивних змін альвеолоцитів II типу, а також можливого uszkodження інтраальвеолярного пула сурфактанту легень гідрохлоридною кислотою, яка проникає через структури аерогематичного бар'єру, що зумовлює розвиток гіпоксії. Ультрамікроскопічні зміни через 6 год. експериментального гострого ураження легень також свідчать про подальше посилення порушень мікроциркуляції та виявів дистрофічних, а також деструктивних і некротичних змін у клітинах, та прогресування гіпоксії.

**Ключові слова:** гостре ураження легень, гідрохлоридна кислота, електронна мікроскопія.

**УДК 616.24-031.84-092]-092.9**

**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ КРЫС НА РАННИХ СТАДИЯХ ОСТРОГО ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ**

**Марущак М.И., Волков К.С., Ярема Н.И.**

**Резюме.** Приведены результаты ультраструктурных изменений легких при экспериментальном остром поражении легких через 2 и 6 часов. Установлено, что в первой стадии острого поражения легких подавляется выработка сурфактанта вследствие дистрофических и деструктивных изменений альвеолоцитов II типа, а также возможного повреждения интраальвеолярного пула сурфактанта легких гидрохлоридной кислотой, которая проникает через структуры аерогематического барьера, что обуславливает развитие гипоксии. Ультрамикроскопические изменения через 6 часов. экспериментального острого поражения легких также свидетельствуют о дальнейшем усилении нарушений микроциркуляции и проявлений дистрофических, а также деструктивных и некротических изменений в клетках, и прогрессировании гипоксии.

**Ключевые слова:** острое поражение легких, гидрохлоридная кислота, электронная микроскопия.

**UDC 616.24-031.84-092]-092.9**

**Ultrastructural Changes Of The Respiratory Part Of Rats' Lungs On The Early Stages Of Acute Lung Injury**  
**Marushchak M.I., Volkov K.S., Yarema N.I.**

**Summary.** Results of ultrastructural changes of the lungs at experimental acute lung injury are presented. The first stage of acute lung injury suppressing of surfactant production was determined as a result of degenerative and destructive changes of alveolocytes type II, as well as possible damage intraalveolar pool of pulmonary surfactant by hydrochloric acid which penetrates through the structure of aero-hematic barrier, which leads to the development of hypoxia. After 6 hours of experimental acute lung injury ultramicroscopic changes suggest about further enhance of microcirculation disorders and manifestations of dystrophic, destructive and necrotic changes in cells, and the progression of hypoxia.

**Key words:** acute lung injury, hydrochloric acid, electron microscopy.

Стаття надійшла 23.04.2012 р.  
Рецензент – проф. Єрошенко Г.А.