

### КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА МОРФОМЕТРИЧНИХ ЗМІН У ЛЕГЕНЯХ ТА МІОКАРДІ ПРИ ПОЛІОРГАННІЙ НЕДОСТАТНОСТІ НА ФОНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО РЕСПІРАТОРНОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ

КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА МОРФОМЕТРИЧНИХ ЗМІН У ЛЕГЕНЯХ ТА МІОКАРДІ ПРИ ПОЛІОРГАННІЙ НЕДОСТАТНОСТІ НА ФОНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО РЕСПІРАТОРНОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ – Експериментальні дослідження виконано на 40 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях віком 6–7 місяців, яких поділили на 3 групи. Виявлено морфологічні та виражені морфометричні зміни при гострому респіраторному дистрес-синдромі на 1 і, особливо, на 2 год у легенях. Також виявлено виражені зміни співвідношень між просторовими характеристиками цитоплазми та ядер кардіоцитів, що свідчить про істотні порушення клітинно-структурного гомеостазу при гострому респіраторному дистрес-синдромі у відповідні терміни спостереження.

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ И МИОКАРДЕ ПРИ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА – Экспериментальные исследования выполнены на 40 белых беспородных половозрелых крысах-самцах в возрасте 6–7 месяцев, которых поделили на 3 группы. Вывявлено морфологические и выраженные морфометрические изменения при остром респираторном дистресс-синдроме на 1 и, особенно, на 2 часа в легких. Также выявлено выраженные изменения соотношения между пространственными характеристиками цитоплазмы и ядер кардиомиоцитов, что свидетельствует о существенных нарушениях клеточно-структурного гомеостаза при остром респираторном дистресс-синдроме в соответствующие сроки наблюдения.

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF MORPHOMETRIC CHANGES IN THE LUNGS AND MYOCARDIUM AT MULTIPLE ORGAN FAILURE ON THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME – Experimental studies were performed on 40 white adult male rats aged 6-7 months which were divided into 3 groups. There were revealed morphological and morphometric changes expressed in acute respiratory distress syndrome in 1, and, especially, for 2 hour in the lungs. Also, there were revealed pronounced changes in the relationship between spatial characteristics of the cytoplasm and nuclei of cardiomyocytes, indicating significant alterations of cellular and structural homeostasis in acute respiratory distress syndrome in the corresponding period of observation.

**Ключові слова:** морфологія, морфометрія, ультраструктура, легені, міокард.

**Ключевые слова:** морфология, морфометрия, ультраструктура, легкие, миокард.

**Key words:** morphology, morphometry, ultrastructure, lung, myocardium.

**ВСТУП** Гострий респіраторний дистрес-синдром – це синдром тяжкої дихальної недостатності, що виникає при різних видах ураження легень. За даними різних авторів, частота гострого респіраторного дистрес-синдрому коливається від 150 тис. до 3,5 млн випадків на рік, а летальність при цій патології сягає 30–65 % [1, 2].

В абсолютних цифрах розповсюдженість гострого респіраторного дистрес-синдрому складає від 1,5 до 70 випадків на 100 000 населення, а загальна летальність внаслідок цієї патології зрівнюється із летальністю при раку легень [3]. Гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) є проявом синдромів системної запальної відповіді (ССЗВ)

та поліорганної недостатності (СПОН). Гостре порушення гомеостазу та функцій двох органів і систем організму і більше вважають синдромом ПОН (СПОН). При порушенні функції двох життєво важливих систем організму летальність становить 55 %, трьох – 85–92 %, чотирьох і більше – наближається до 100 % [4, 5]. Основними “органі-мішенями” при ПОН є легені, серце, нирки та печінка. ГРДС має багатофакторний характер патогенезу та багатокомпонентність порушень структури та функцій органів-мішеней, поліморфну клінічну симптоматику з відсутністю чітких діагностичних критеріїв, які б визначали лікувальну тактику та дозволили прогнозувати результат захворювання [6, 7].

Враховуючи рівень смертності від ГРДС, можна стверджувати, що запропоновані на сьогодні методи лікування не можуть вирішити питання оптимального постачання кисню до органів і систем, а особливості морфологічних порушень в органах-мішенях при ГРДС потребують подальшого вивчення [8].

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Експериментальні дослідження виконані на 40 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях віком 6–7 місяців, масою від 220 до 280 г. 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 проведення експерименту було використано середньостійкі до гіпоксії щури. Тваринам моделювали ГРДС за методикою G. Matute-Bello, 2008 р.: за 20 хв до початку операції внутрішньоочередно вводили тіопентал натрію (40 мг/кг маси щура), проводили цервікотомію довжиною до 1,5–2 см, знаходили трахею і вводили в неї 0,1 Н розчин соляної кислоти з розрахунку 2 мл/кг [9, 10]. Тварин виводили з експерименту на 1-шу та 2-гу год після моделювання ГРДС [11, 12].

Залежно від термінів ГРДС усіх тварин поділили на 3 експериментальні групи (перша – контрольна – 10 щурів; друга – із змодельованим ГРДС на 1 год експерименту – 15 щурів; 2 – із змодельованим ГРДС на 2 год експерименту – 15 щурів).

Для гістологічного дослідження вирізали шматочки тканини з міокарда та легень дослідних тварин, які фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну і, після відповідного проведення через етилові спирти зростаючої концентрації, поміщали в парафін. Мікротомні зрізи товщиною 5–7 мкм після депарфінізації фарбували гематоксиліном і еозинном.

При морфометричному дослідженні структур сегментарних бронхів визначали висоту епітеліоцитів, діаметр їх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення в цих клітинах, відносний об’єм пошкоджених епітеліоцитів.

Морфометрично в міокарді лівого шлуночка визначали діаметр кардіоцитів, діаметр їх ядер, ядер-

но-цитоплазматичні відношення в кардіоміоцитах, стромально-кардіоміоцитарні відношення в міокарді лівого шлуночка, капілярно-кардіоміоцитарні відношення, а також відносний об'єм пошкоджених кардіоміоцитів.

Світлооптично досліджували гістологічні препарати в мікроскопах МБІ-6, МБІ-15, Люмам Р-8.

Отримані кількісні величини обробляли статистич-

но. Різницю між порівнюваними морфометричними параметрами визначали з використанням коефіцієнта Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Отримані морфометричні параметри сегментарних бронхів контрольної групи тварин та щурів із експериментальним ГРДС на 1 та 2 год наведено в таблиці 1.

**Таблиця 1. Морфометрична характеристика змін у сегментарних бронхах дослідних тварин при експериментальному ГРДС ( $M \pm m$ )**

Показник	Групи спостереження		
	контроль	ГРДС, 1 год	ГРДС, 2 год
Висота епітеліоцитів, мкм	19,70±0,24	20,90±0,27*	22,50±0,30***
Діаметр ядер епітеліоцитів, мкм	5,40±0,06	5,60±0,07*	5,90±0,07**
Ядерно-цитоплазматичні відношення	0,0750±0,0009	0,0710±0,0008*	0,0702±0,0007**
Відносний об'єм пошкоджених епітеліоцитів, %	2,20±0,03	33,60±0,42***	66,70±0,93***

Примітка. Зірочкою позначені величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних контрольних (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

Всестороннім аналізом представлених морфометричних параметрів легень встановлено, що при змодельованій патології (ГРДС) вони суттєво змінювалися. Так, висота епітеліоцитів сегментарних бронхів при змодельованому ГРДС на 1 год збільшилася з (19,70±0,24) до (20,90±0,27) мкм, тобто на 6,1 %. Діаметр ядер епітеліоцитів при цьому зріс з (5,40±0,06) до (5,60±0,07) мкм, тобто на 3,7 %. Нерівномірне збільшення в умовах експерименту цитоплазми та ядер епітеліоцитів сегментарних бронхів призводило до порушення у них співвідношень між ядром та цитоплазмою. Так, ядерно-цитоплазматичні відношення в епітеліоцитах неуразених бронхів дорівнювали 0,0750±0,0009, а при експериментальному ГРДС на 1 год – 0,0710±0,0008. Остання цифра менша за попередню на 5,3 %. Відносний об'єм пошкоджених епітеліоцитів сегментарних бронхів при експериментальному ГРДС на 1 год збільшився у 15,27 раза.

Досліджувані морфометричні параметри при експериментальному ГРДС на 2 год змінювалися більшою мірою. Так, висота епітеліоцитів сегментарних бронхів при досліджуваній патології зросла з 19,70±0,24 до 22,50±0,30, тобто на 14,2 %. Діаметри ядер досліджуваних клітин при цьому зросли з 5,40±0,06 до (5,90±0,07) мкм. Встановлене збільшення склало 9,2 %. Ядерно-цитоплазматичне відношення в епітеліоцитах сегментарних бронхів при експериментальному ГРДС на 2 год склало 0,0702±0,0007. Ця цифра відрізнялася від аналогічної контрольної 0,0750±0,0009 і виявилася меншою за неї на 6,4 %. Відносний об'єм пошкоджених епітеліоцитів сегментарних бронхів при експериментальному ГРДС дорівнював (66,70±0,93) %. Даний морфометричний параметр перевищував аналогічний контрольний ((2,20±0,03) %) у 30,3 раза.

Отримані та проаналізовані морфометричні параметри свідчать, що альтеративні явища у сегментарних бронхах найбільш виражені при експериментальному ГРДС на 2 год експерименту.

При світлооптичному дослідженні у стінці сегментарних бронхів виявлено виражені альтеративні (дистрофія, некробіоз, набряк строми, десквамація епітеліоцитів) та судинні розлади при експериментально-

му ГРДС на 1 год. При експериментальному ГРДС на 2 год вищевказані процеси були виражені більшою мірою і у стінці бронха з'являлися лімфоїдно-гістіоїдні інфільтрати (рис. 1, 2).

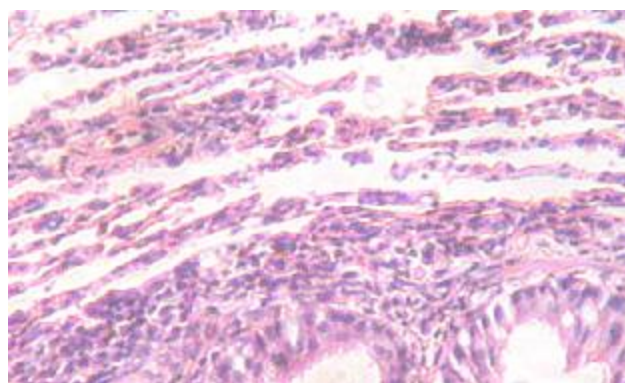


Рис. 1. Виразений набряк, дистрофічні та некробіотичні процеси в стінці сегментарного бронха білого щура при експериментальному ГРДС на 1 год експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 125.

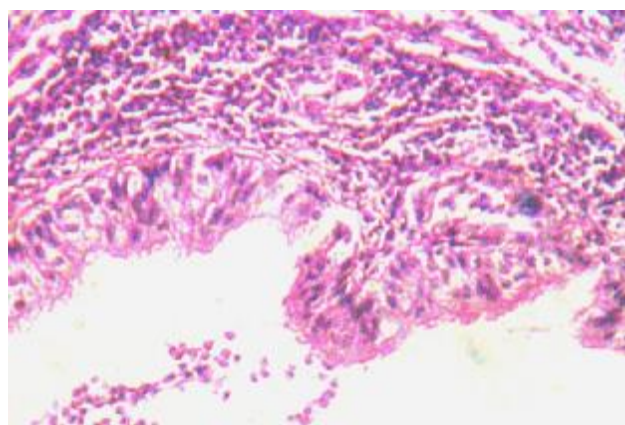


Рис. 2. Виразений набряк, дистрофічні, некробіотичні та інфільтративні процеси в стінці сегментарного бронха білого щура при експериментальному ГРДС на 2 год експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 125.

Морфометричним дослідженням міокарда встановлено, що при експериментальному ГРДС на 1 год збільшувався діаметр кардіоміоцитів з  $(14,70 \pm 0,21)$  до  $(15,90 \pm 0,15)$  мкм (табл. 2). Діаметр ядер кардіоміоцитів в умовах змодельованого експерименту зріс з  $(5,45 \pm 0,11)$  до  $(5,95 \pm 0,12)$  мкм, тобто на 9,17 %. В даних експериментальних умовах істотно змінювалися стромально-кардіоміоцитарні відношення в міокарді. Так, в непошкодженому лівому шлуночку названий морфометричний параметр дорівнював  $(0,175 \pm 0,003)$ , а в експерименті на 1 год –  $(0,190 \pm 0,003)$ . Останній морфометричний параметр перевищував попередній на 8,57 %.

Капілярно-кардіоміоцитарні відношення зменшилися з  $0,0620 \pm 0,0009$  до  $0,0570 \pm 0,0009$ , тобто на 8,06 %. Альтеративні процеси підтверджуються істотним збільшенням в умовах змодельованої патології відносного об'єму пошкоджених кардіоміоцитів, названий параметр зріс з  $(2,30 \pm 0,03)$  до  $(20,90 \pm 0,24)$  %, тобто у 9,08 раза.

Досліджувані морфометричні параметри міокарда при експериментальному ГРДС на 2 год експерименту змінювались більшою мірою: діаметр кардіоміоцитів у досліджуваній групі спостережень дорівнював  $(18,30 \pm 0,24)$  мкм, діаметри ядер кардіоміоцитів дорівнювали  $(6,18 \pm 0,07)$  мкм. Цей морфометричний параметр на 13,4 % виявився більшим від аналогічного

контрольного ( $(5,45 \pm 0,11)$  мкм) і на 3,86 % від аналогічного показника попередньої групи ( $(5,95 \pm 0,12)$  мкм). В даних експериментальних умовах зменшилися ядерно-цитоплазматичні відношення в кардіоміоцитах: з  $(0,137 \pm 0,002)$  мкм (контрольна група) до  $(0,114 \pm 0,001)$  мкм при експериментальному ГРДС на 2 год експерименту, що склало 16,8 %.

Стромально-кардіоміоцитарні відношення в міокарді при змодельованій патології збільшилися з  $0,175 \pm 0,003$  до  $0,315 \pm 0,004$ , тобто у 1,8 раза. При цьому останній морфометричний параметр перевищував попередній при експериментальному ГРДС на 1 год експерименту в 1,65 раза, що свідчить про збільшення стромальних елементів у міокарді, яке можна пояснити вираженим набряком стромы. Капілярно-кардіоміоцитарні відношення в міокарді при експериментальному ГРДС на 2 год експерименту зменшувалися з  $0,0620 \pm 0,0009$  до  $0,0510 \pm 0,0009$ , тобто на 17,7 %. Відносний об'єм пошкоджених кардіоміоцитів при цьому зріс з  $2,30 \pm 0,03$  до  $35,50 \pm 0,36$ , тобто у 15,4 раза.

При світлооптичному вивченні препаратів міокарда в умовах змодельованої патології виявлялися дистрофічні та некробіотичні зміни кардіоміоцитів, виражений стромальний та перивазальний набряк, судинні розлади, які домінували на 2 год експерименту (рис. 3 і 4).

Таблиця 2. Морфометрична характеристика міокарда лівого шлуночка ( $M \pm m$ )

Показник	Група спостереження		
	контрольна	ГРДС, 1 год	ГРДС, 2 год
Діаметр кардіоміоцитів, мкм	$14,70 \pm 0,21$	$15,90 \pm 0,15^{**}$	$18,30 \pm 0,24^{***}$
Діаметр ядер кардіоміоцитів, мкм	$5,45 \pm 0,11$	$5,95 \pm 0,12^*$	$6,18 \pm 0,07^{***}$
Ядерно-цитоплазматичні відношення в кардіоміоцитах	$0,137 \pm 0,002$	$0,140 \pm 0,003$	$0,114 \pm 0,001^{***}$
Стромально-кардіоміоцитарні відношення	$0,175 \pm 0,003$	$0,190 \pm 0,003^*$	$0,315 \pm 0,004^{***}$
Капілярно-кардіоміоцитарні відношення	$0,0620 \pm 0,0009$	$0,0570 \pm 0,0009^*$	$0,0510 \pm 0,0009^*$
Відносний об'єм пошкоджених кардіоміоцитів, %	$2,30 \pm 0,03$	$20,90 \pm 0,24^{***}$	$35,50 \pm 0,36^{***}$

Примітка. Зірочкою позначені величини, які статистично достовірно відрізняються від контрольних (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

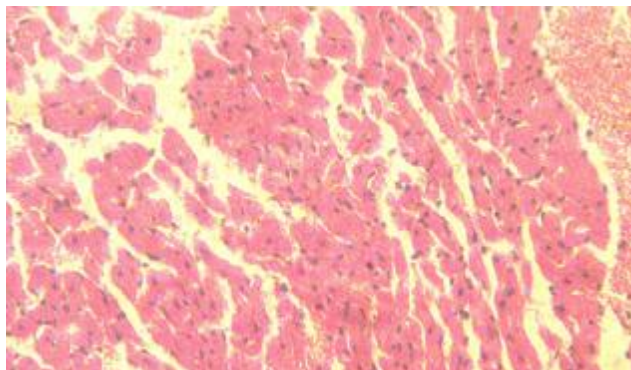


Рис. 3. Набряк стромы, дистрофія кардіоміоцитів, судинні розлади в серці білого щура при експериментальному ГРДС на 1 год експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозином.  $\times 125$ .

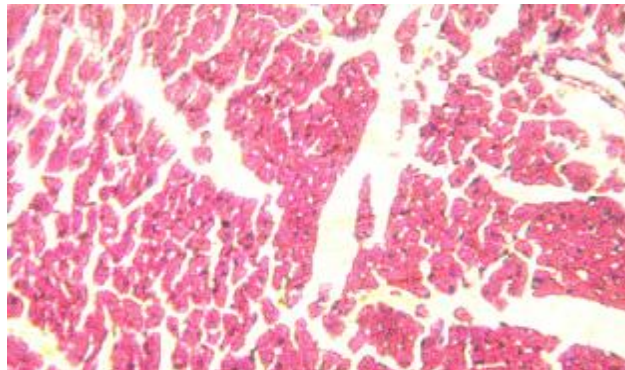


Рис. 4. Виражені дистрофічні та некробіотичні зміни кардіоміоцитів, стромальний та перивазальний набряк у серці білого щура при експериментальному ГРДС на 2 год експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозином.  $\times 125$ .

**ВИСНОВКИ** 1. Комплексом морфологічних та морфометричних методів виявлено, що при експериментальному гострому респіраторному дистрес-синдромі суттєвої структурної перебудови зазнавали сегментарні бронхи, ця перебудова характеризувалася збільшенням просторових характеристик епітеліоцитів, їх ядер, порушенням ядерно-цитоплазматичних відношень в епітеліоцитах, суттєвим зростанням відносного об'єму пошкоджених епітеліоцитів.

2. При експериментальному гострому респіраторному дистрес-синдромі відбуваються дистрофічні, некробіотичні зміни кардіоміоцитів та сполучнотканинних структур, виражені судинні розлади. Відповідно в кардіоміоцитах істотно змінюються ядерно-цитоплазматичні відношення, стромально-кардіоміоцитарні відношення зростають, капілярно-кардіоміоцитарні відношення зменшуються, збільшується відносний об'єм пошкоджених кардіоміоцитів.

3. Поєднання морфологічних та морфометричних методів дослідження, що доповнюють один одного, дає змогу більш детально зрозуміти порушення клітинно-структурного гомеостазу в легенях та міокарді при гострому респіраторному дистрес-синдромі в динаміці.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Predictive and pathogenetic value of plasma biomarkers for acute kidney injury in patients with acute lung injury / K. D. Liu, D. V. Glidden, M. D. Eisner [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2007. – Vol. 35. – P. 2755–2761.
2. Rocco P. R. Lung parenchyma remodeling in acute respiratory distress syndrome / P. R. Rocco, C. Dos Santos, P. Pelosi // *Minerva Anesthesiol.* – 2009. – Vol. 75(12). – P. 730–740.
3. Atabai K. The pulmonary physician in critical care: Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: definitions and

epidemiology / K. Atabai // *Thorax.* – 2002. – Vol. 57. – P. 452–458.

4. Старенькая И. Нейропротекция при синдроме полиорганной недостаточности / И. Старенькая // *Здоров'я України.* – 2005. – № 119. – С.14–16.

5. Чернишов В. І. Використання плазмозамінників на основі сорбітолу для ресусцитації хворих з травматичним шоком: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.30 – анестезіологія і інтенсивна терапія / В. І. Чернишов. – К., 2009. – 25 с.

6. Курапов Е. П. Тактика лечения респираторного дистресс-синдрома взрослых / Е. П. Курапов, М. И. Ворлих // *Біль, знеболювання та інтенсивна терапія.* – 1999. – № 2(Д). – С. 35–38.

7. Кравчук Р. Я. Респіраторний дистрес-синдром дорослих у практиці інтенсивної терапії / Р. Я. Кравчук, А. С. Лучко // *Львівський медичний часопис.* – 1996. – № 2. – С. 20–24.

8. 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. – № 33. – P. 319–327.

9. Gustavo Matute-Bello. Animal models of acute lung injury / Gustavo Matute-Bello, Charles W. Frevert, Thomas R. Martin // *American Journal Physiology - Lung Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 3. – P. 379–399.

10. Rocco P. R. Lung parenchyma remodeling in acute respiratory distress syndrome / P. R. Rocco, C. Dos Santos, P. Pelosi // *Minerva Anesthesiol.* – 2009. – № 75 (12). – P. 730–740.

11. The alveolar epithelium can initiate the extrinsic coagulation cascade through expression of tissue factor / J. A. Bastarache, L. Wang, T. Geiser [et al.] // *Thorax.* – 2007. – № 62. – P. 608–616.

12. Ware L. B. Pathophysiology of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome / L. B. Ware // *Semin Respir Crit Care Med.* – 2006. – № 27. – P. 337–349.

Отримано 04.01.12