

ОСТРОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ЛЕГКИХ, ОБУСЛОВЛЕННОЕ ТРОМБОЗОМ МИКРОСОСУДОВ

А. М. Голубев, В. В. Мороз, Д. В. Лысенко, Г. Н. Мещеряков, А. Н. Кузовлев

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва

Acute Lung Lesion Caused by Microvascular Thrombosis

A. M. Golubev, V. V. Moroz, D. V. Lysenko, G. N. Meshcheryakov, A. N. Kuzovlev

Research Institute of General Reanimatology,
Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Цель исследования. Оценка роли тромбоза сосудов микроциркуляторного русла малого круга кровообращения в развитии острого повреждения легких (ОПЛ). **Материалы и методы.** Эксперименты проведены на 60 белых беспородных крысах-самцах. Крысам под наркозом в яремную вену вводили раствор тромбoplastина. Длительность экспериментов от 1 часа до 3 суток. Кусочки легких фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, проводилась ШИК-реакция. Применялись морфометрические и статистические методы исследования. **Результаты исследования.** Через 1–3 часа после введения тромбoplastина в просветах мелких артерий, капилляров и вен выявляются тромбы, развивается интерстициальный и интраальвеолярный отек, диапедезные кровоизлияния, отмечается слущивание эпителия в просвет бронхов, инфильтрация межальвеолярных перегородок сегментоядерными лейкоцитами. Выраженность морфологических изменений в легких неодинакова у различных животных. **Заключение.** Тромбоз сосудов микроциркуляторного русла малого круга кровообращения ведет к развитию острого повреждения легких, документируемого морфологическими исследованиями.

Objective. To assess a role of pulmonary microvascular thrombosis in the development of acute lung lesion. **Material and Methods.** Experiments were carried out on 60 albino non-inbred male rats. Thromboplastin solution was injected into their jugular vein under anesthesia. Experiments lasted 1 hour to 3 days. Lung specimens were fixed in 10% neutral formaldehyde solution and poured into paraffin. Histological slices were stained with hematoxylin-eosin; periodic acid Schiff reaction was made. Morphometrical and statistical studies were employed. **Results.** 1–3 hours after thromboplastin injection, there were thromboses in the lumens of minor arteries, capillaries, and veins, developed interstitial and intraalveolar edema, and diapedetic hemorrhages, epithelial desquamation into the bronchial lumen, as well as stab leukocytic infiltration of interalveolar septa. The magnitude of morphological changes in the lung is dissimilar in different animals. **Conclusion.** Pulmonary microvascular thrombosis leads to the development of acute lung lesion documented by morphological studies.

Несмотря на существующее представление о роли факторов коагуляции в развитии острого повреждения легких (ОПЛ), многие стороны этого процесса остаются недостаточно изученными. Имеющиеся исследования свидетельствуют о том, что нарушения процессов коагуляции при критических состояниях (травма, кровопотеря, сепсис и др.) развиваются вторично. В то же время, отсутствуют исследования, свидетельствующие о возможности формирования ОПЛ в результате тромбоза (первичный процесс) сосудов микроциркуляторного русла легких. В клинической практике такую опасность представляют тромбоэмболические осложнения, нередко развивающиеся в послеоперационном периоде [1]. Опубликованные в 1975 г. F. Markwardt et al. [2] результаты исследования патогенеза диссеминированной интраваскулярной коагуляции показали, что внутривенное введение р-аминометилбензойной кислоты в целях угнетения фибринолиза, сопровождается повреждением эн-

дотелиальных клеток и альвеолярного эпителия, развитием интерстициального отека, образованием депозитов фибрина в альвеолах. Термин ОПЛ был введен значительно позже — в 1994 г., а в его патогенезе основная роль отводится отеку легких (в том числе интраальвеолярному) и системному воспалительному ответу [3].

Нами проведено исследование, целью которого явилось изучение ранних морфологических изменений легких в результате тромбоза сосудов микроциркуляторного русла и их оценка с точки зрения соответствия признакам, характеризующим острое повреждение легких.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 60 белых беспородных крысах-самцах массой 280–320 г. Для наркоза использовали этиминал натрия внутривенно (15–20 мг/кг массы животного). После наркотизации интубировали трахею (или выполняли трахеосто-

мию), катетеризовали яремную вену справа и проводили ИВЛ воздухом в течение 1 часа (дыхательный объем 2 мл, частота дыхания 40 в мин.). Опытной группе животных с помощью инфузома в течение 15 мин. вводили 1 мл раствора лиофилизированного очищенного тромбопластина (20 мг/кг, производство НПО «Ренам»). Животным группы сравнения вместо раствора тромбопластина вводили внутривенно раствор Рингера в том же объеме (1 мл). В дальнейшем, через 1,2–3 часа, 1 и 3 суток после введения тромбопластина наркотизированных крыс выводили из эксперимента декапитацией. Кусочки легких фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, проводилась ШИК-реакция. Выполняли морфометрические исследования с последующей статистической обработкой с использованием *t*-критерия Стьюдента. При проведении морфометрических исследований измеряли диаметры альвеол, толщину межальвеолярных перегородок, диаметры просветов бронхов. В гистологических срезах проводилось тридцать измерений, на основании которых определялась величина средней арифметической и ошибка средней арифметической. Все эксперименты были разделены на следующие группы: контроль — 6, группа сравнения (наркоз, ИВЛ, введение раствора Рингера) — 20, опытная группа (наркоз, ИВЛ, введение тромбопластина) — 34. На основании проведенных экспериментов предложен способ моделирования острого повреждения легких (приоритетная справка №2004134555 от 29.11.2004, Роспатент).

Результаты

При гистологическом исследовании легких у контрольных животных отмечается слабо выраженная складчатость слизистой оболочки бронхов. Просветы бронхов и альвеол свободны. Некоторые межальвеолярные перегородки утолщены за счет лимфогистиоцитарной инфильтрации. Результаты морфометрического исследования: диаметр альвеол $58,4 \pm 2,7$ мкм, толщина межальвеолярных перегородок $7,1 \pm 0,16$ мкм, диаметр просвета бронхиол $28,4 \pm 1,83$ мкм.

В группе сравнения через 1–3 часа на поверхности слизистой оболочки бронхов обнаруживается небольшое количество секрета. Отдельные бронхиолы имеют звездчатую форму, в их просветах выявляются слущенные эпителиальные клетки. Диаметры просветов некоторых бронхиол уменьшены ($14,45 \pm 2,1$ мкм, $p < 0,05$). Некоторые альвеолы увеличены в размерах ($97 \pm 7,43$ мкм, $p < 0,05$). Обнаруживаются небольшие субплевральные дистелектазы и микроателектазы. Часть межальвеолярных перегородок утолщена ($12,7 \pm 0,31$ мкм, $p < 0,05$) в результате клеточной лимфогистиоцитарной инфильтрации с примесью лейкоцитов. В просветах единичных альвеол обнаруживается отечная жидкость, располагающаяся на внутренней поверхности альвеол. Ядра эндотелиальных клеток набухшие, выступают в просвет сосудов. Соединительная ткань, окружающая ветви легочной артерии разрыхлена, в ней видны сегментоядерные лейкоциты, макрофаги. Лимфатические сосуды умеренно расширены.

В просветах крупных бронхов также содержится слизистый секрет. Спавшиеся бронхиолы со слущиванием эпителия и признаками гиперсекре-

ции чаще всего обнаруживаются в зонах микроателектазов. Ядра части слущенных эпителиальных клеток пикнотичны, гиперхромны. Другие ядра гипохромные или не окрашены (кариолизис). Встречаются апоптотические тельца. В просветах некоторых альвеол обнаруживаются макрофаги. В участках легких, где альвеолы расширены, межальвеолярные перегородки истончены. В некоторых межальвеолярных перегородках видны диадезные кровоизлияния.

Через 1–3 суток от начала эксперимента просветы бронхов свободны, в единичных бронхиолах встречаются слущенные эпителиальные клетки. Альвеолы воздушны, видны небольшие субплевральные дистелектазы. Отмечается неравномерная клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок с небольшой примесью сегментоядерных лейкоцитов. Результаты морфометрических исследований близки к показателям ранних сроков экспериментов. В двух наблюдениях крысы погибли через 12 и 36 часов после наркоза, ИВЛ и введения физиологического раствора. В просветах бронхов обнаружены пласты слущенного эпителия, обтурирующие просветы бронхов, и скопление сегментоядерных лейкоцитов. Выявлены многочисленные интраальвеолярные кровоизлияния и кровоизлияния в межальвеолярные перегородки. Отмечалось выраженное полнокровие легочных артерий, капилляров и вен, расположенных в стенке бронхов. Следовательно, наркоз, ИВЛ и введение в сосуды малого круга кровообращения раствора Рингера ведут к повышению проницаемости сосудов микроциркуляторного русла, слущиванию эпителия бронхов, развитию микроателектазов и компенсаторной очаговой эмфиземы.

В опытной группе через 1–3 часа после введения тромбопластина в просветах мелких ветвей легочной артерии, капиллярах и венулах содержатся тромбы (рис. 1 а) (в том числе гиалиновые). Отмечается усиление секреции бокаловидными клетками слизистой оболочки бронхов. В просветах бронхиол содержится секрет и слущенные эпителиальные клетки (рис. 1 б). 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 ($9,6 \pm 0,68$ мкм, $p < 0,05$) или их просветы заполнены секретом и слущенными клетками. В просветах альвеол содержится отечная жидкость. Отмечается очаговое расширение альвеол (диаметр альвеол $124,1 \pm 9,48$ мкм, $p < 0,05$) с истончением межальвеолярных перегородок (их толщина составляет $2,5 \pm 0,1$ мкм, $p < 0,05$). Некоторые межальвеолярные перегородки утолщены ($16,7 \pm 1,15$ мкм, $p < 0,05$), инфильтрованы сегментоядерными лейкоцитами

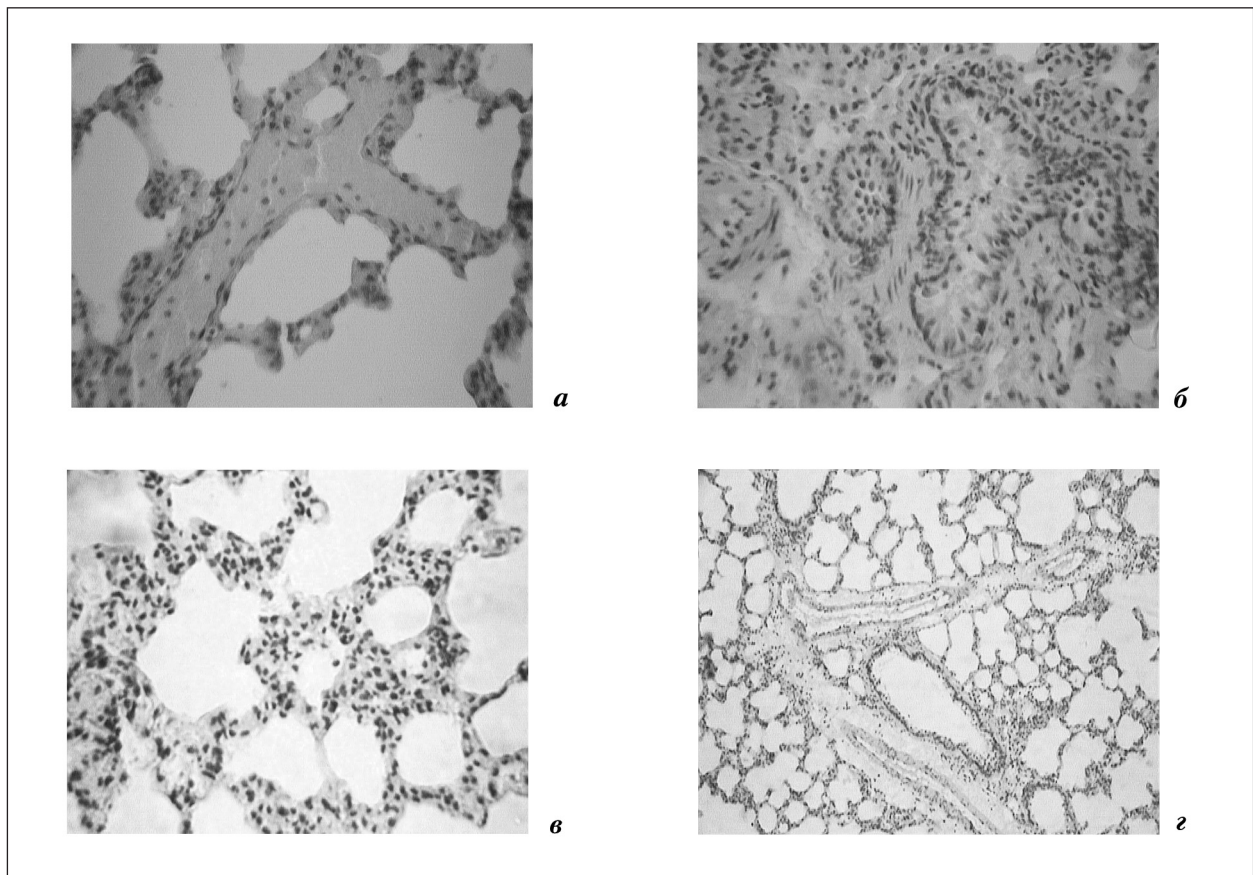


Рисунок. *a* – тромб в венуле, окрашивание гематоксилин-эозином, $\times 200$; *б* – слущивание эпителия бронхиол, окрашивание гематоксилин-эозином, $\times 200$; *в* – лейкоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок, окрашивание гематоксилин-эозином, $\times 200$; *г* – периваскулярный отек, окрашивание гематоксилин-эозином, $\times 100$.

(рис. 1 *в*) и макрофагами. 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 (рис. 1 *г*) и кровоизлияния. Лимфатические сосуды умеренно расширены. В одном наблюдении крыса погибла через 20 мин после введения тромбопластина. В этом случае выявлены тромбы в крупных ветвях легочной артерии, обширные ателектазы и дистелектазы. Часть бронхиол находится в спавшемся состоянии (диаметр их просвета $9,6 \pm 0,68$ мкм, $p < 0,05$).

Через 1–3 суток 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 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. Морфометрические показатели, в основном, соответствуют значениям, полученным в ранние сроки эксперимента (1–3 часа).

Обсуждение результатов

Таким образом, тромбоз сосудов микроциркуляторного русла малого круга кровообращения ведет к развитию острого повреждения легких. При гистологическом исследовании обнаруживаются характерные признаки ОПЛ: интерстициальный и интраальвеолярный отек и признаки системного воспалительного ответа (инфильтрация межальвеолярных перегородок сегментоядерными лейкоцитами). Следует отметить, что морфологические признаки ранних стадий ОПЛ изучены не-

достаточно. В основном морфологические исследования посвящены изучению структурных изменений в легких в более поздней стадии — стадии респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Указывается [4], что расстройства микроциркуляции при ОРДС регистрируются в 90% наблюдений и проявляются полнокровием мелких артерий, капилляров и вен, стазами, сладжами, лейкостазами. Тромбы в мелких венах легких выявляются на 2–3 сутки после развития критических состояний. По мнению некоторых авторов [5] реперфузия и реоксигенация тканей после длительных нарушений микроциркуляции являются решающими факторами в развитии острого респираторного дистресс-синдрома. При длительных расстройствах микроциркуляции (тяжелая сочетанная травма, массивная кровопотеря, сепсис, перитонит и др.) в крови появляются микрочастицы (в том числе микротромбы), достигающие 60–100 мкм, что ведет к усугублению нарушений микроциркуляции в малом круге кровообращения.

На ряд вопросов о взаимоотношении коагуляции и воспаления дают ответ экспериментальные исследования. В частности, блеомицин-индуцированное острое повреждение легких является примером тромбин-зависимой патологии. Активация тромбина способствует прогрессированию воспаления. В низкой концентрации интраваскулярный тромбин активирует протеин-С, связанный с рецептором протеина-С эндотелиальных клеток. Активация эндотелиального протеина-С, в свою очередь, активирует рецепторы протеаз эндотелиальных клеток [6].

Важное значение имеет и то, в каких сосудах легких возникают расстройства кровообращения. Моделирование тромбоэмболии легочной артерии введением в кровоток тромбоэмболов

различного диаметра показало, что при обтурации ствола легочной артерии крыс тромбоэмболами размером 0,8–1,2 мм животные погибают в течение первых минут эксперимента. При введении в кровоток тромбоэмболов диаметром 0,2 мм 22 крысы из 24 выжили (к системе микроциркуляции относятся сосуды диаметром менее 100 мкм). Расстройства кровообращения отмечались в течение 40 дней наблюдения, а дефицит перфузии составил 23%. В гистологических препаратах легких через 40 дней после введения тромбоэмболов выявлены неравномерная воздушность легких с чередованием зон ателектаза, эмфиземы и пневмосклероза. Инфаркт легких обнаружен в 20% наблюдений [7].

Выводы

1. Тромбоз сосудов микроциркуляторного русла ведет к появлению морфологических признаков острого повреждения легких через 1–3 часа после введения тромбопластина. Это подтверждается формированием интерстициального и интраальвеолярного отека и инфильтрацией сегментоядерными лейкоцитами межальвеолярных перегородок.

2. Ранним признаком острого повреждения легких является слушивание эпителия бронхов, усиление секреции бокаловидными клетками, изменение ядер эпителиальных клеток (кариопикноз, кариолизис), формирование апоптотических телец.

3. Интенсивность острого повреждения легких неодинакова у различных животных. У части крыс через 1–3 суток отмечается резкий интраальвеолярный отек, многочисленные интраальвеолярные кровоизлияния, интенсивная лейкоцитарная реакция.

Литература

1. Овечкин А. М., Люсов С. В. Тромбоэмболические осложнения в интенсивной терапии и хирургии: способы решения проблемы (аналитический обзор). *Анестезиология и реаниматология* 2004; 1: 74–78.
2. Markwardt F., Nowak G., Meerbach W., Rudiger K. D. Studies in experimental animals on disseminated intravascular coagulation (DIC). *Trombos. Diathes. haemorrh.* (Stuttg.) 1975; 34: S513–521.
3. Bernard G. R., Artigas A., Brigham K. L. et al. The American-European consensus conference of ARDS. Definitions, mechanism, relevant outcomes and clinical trial coordination. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 149: 818–824.
4. Селезнев С. А., Шапот Ю. Б., Новиков А. С. и др. Клиника, диагностика и лечение респираторного дистресс-синдрома взрослых (РДСВ) у больных, находящихся в критическом состоянии: Пособие для врачей с методическими рекомендациями. СПб.; 1998.
5. Кассиль В. А., Золотокрылина Е. С. Острый респираторный дистресс-синдром. М.: Медицина; 2003.
6. Ruf W., Riewald M. Tissue factor-dependent coagulation protease signaling in acute lung injury. *Crit. Care Med.* 2003; 31 (4 Suppl): 231–237.
7. Амосов В. И., Золотнищкая В. П. Экспериментальное моделирование тромбоэмболии легочной артерии. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция* 2003; 3 (7): 54–57.

Поступила 28.03.05