

АСПИРАЦИОННОЕ ОСТРОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ЛЕГКИХ (экспериментальное, морфологическое исследование)

А. М. Голубев, Ю. А. Городовикова, В. В. Мороз, Ю. В. Марченков, Д. В. Сундуков

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва;
Российский государственный университет Дружбы народов, Москва

Aspiration-Induced Acute Lung Injury: Experimental Morphological Study

A. M. Golubev, Yu. A. Gorodovikova, V. V. Moroz, Yu. V. Marchenkov, D. V. Sundukov

Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow
Russian State University of Peoples' Friendship, Moscow

Цель исследования — выявить ранние морфологические изменения в легких после аспирации ацидин-пепсина (сочетание соляной кислоты и протеолитического фермента). **Материал и методы.** Эксперимент проведен на 30 белых беспородных крысах-самцах, которым в трахею вводили раствор ацидин-пепсина (РН-1,2). Длительность исследования от 1 часа до суток. Гистологические срезы легких окрашивали гематоксилин-эозином. **Результаты.** Через 1 час после аспирации у всех животных развивался интерстициальный отек, отмечалось слущивание эпителия бронхов, инфильтрация межальвеолярных перегородок сегментоядерными лейкоцитами, кровоизлияния, сладжи. **Заключение.** Аспирация ацидин-пепсина приводит к развитию острого повреждения легких, документируемого морфологическими исследованиями. **Ключевые слова:** аспирация, острое повреждение легких.

Objective: to reveal early lung morphological changes after acidin-pepsin aspiration (a combination of hydrochloric acid and proteolytic enzyme). **Material and methods.** An experiment was made on 30 non-inbred albino male rats whose trachea acidin-pepsin solution (pH 1.2) was administered into. The experiment lasted 1 to 24 hours. Lung histological specimens were stained with hematoxylin and eosin. **Results.** After an hour of surgery, all the animals developed interstitial edema, had the desquamated bronchial epithelium, segmented leukocytic infiltration of alveolar septa, hemorrhages, and sludges. **Conclusion.** Acidin-pepsin aspiration leads to the development of acute lung injury verified by morphological studies. **Key words:** aspiration, acute lung lesion.

Острое повреждение легких (ОПЛ), осложняющее течение многих критических состояний, имеет полиэтиологический характер и развивается в результате системной воспалительной реакции [1]. Несмотря на достижения современной медицины, летальность при ОПЛ остается высокой, что обуславливает высокий научно-практический интерес к этой проблеме.

Эпидемиологические исследования и клинические наблюдения показали, что одним из важных этиологических факторов развития ОПЛ является аспирация желудочного содержимого [2], которая регистрируется у больных с угнетением сознания [3] и, в частности, у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой (ТЧМТ). Тяжесть повреждения зависит от характера желудочного содержимого: его pH, количества, консистенции. Аспирация, выявляющаяся в 45–70% случаев ЧМТ [4], приводит к повреждению слизистой оболочки трахеи, бронхов, альвеолярного эпителия [5]. Воздействие травмирующего агента способствует выбросу биологически активных веществ — медиаторов воспаления: активации систем комплемента, высвобождению фактора некроза опухоли-альфа, различных интерлейкинов (в частности, ИЛ-6, ИЛ-8), свободных радикалов [6], приводящих к дальнейшему прогрессированию структурных и функциональ-

ных изменений в легких [7, 8]. Основным пусковым механизмом развития ОПЛ является системная воспалительная реакция. Выработка медиаторов воспаления ведет к повреждению легочной ткани, повышению проницаемости сосудов, накоплению внесосудистой жидкости и экссудации белков с формированием отека легких. Важную роль играет повреждение сурфактанта, что способствует процессу микроателектазирования. Повреждение легких приводит к артериальной гипоксемии, нарушению вентиляционно-перфузионных соотношений, нарастанию внутрилегочного шунтирования крови, что способствует развитию острой дыхательной недостаточности (ОДН). До настоящего времени не описаны критерии ранней диагностики ОПЛ, причиной которой явилась аспирация желудочного содержимого, что послужило основанием для изучения морфологических изменений в легких.

Большинство экспериментальных исследований посвящено оценке цитокинового ответа на аспирацию желудочного сока. Одни исследователи проверяли уровни ФНО- α и ИЛ-6 в бронхоальвеолярном лаваже у свиней через час после введения в трахею желудочного сока. Контрольной группе вводили физиологический раствор. Было установлено, что уровень ИЛ-6, ФНО достоверно повышается у свиней, которым вводили желу-

дочный сок, аспирация солевого раствора не приводила к изменению ФНО, а ИЛ-6 повышался незначительно. Авторы предположили, что уровень повышения цитокинов коррелирует с тяжестью повреждения легких [9].

Другие исследователи изучали ИЛ-8-зависимые механизмы развития ОПЛ у кроликов. ИЛ-8 — фактор хемотаксиса для нейтрофилов, которые являются центральными клетками воспалительного ответа при ОПЛ: повышенную аккумуляцию нейтрофилов обнаруживают как в легких, так и в бронхоальвеолярном лаваже. Основной группе кроликов в трахею вводили раствор соляной кислоты с рН 1,5, вторую группу предварительно лечили моноклональными анти-ИЛ-8 антителами и затем вводили раствор кислоты, а контрольной группе — физиологический раствор. Было выявлено, что аспирация кислоты увеличивает проницаемость капилляров для протеинов. Предварительная терапия моноклональными антителами к ИЛ-8 в эксперименте снижала проницаемость сосудов, уменьшая легочное повреждение [10].

Цель работы — изучить морфологические изменения в легких при моделировании острого повреждения легких (ОПЛ) в первые сутки после аспирации ацидин-пепсина.

Материалы и методы

Исследование проводили на 30 беспородных белых крысах-самцах массой 300—350 г. Непосредственно в просвет трахеи интубированным и наркотизированным животным (тиопентал натрия внутривенно) вводили растворенный в физиологическом растворе ацидин-пепсин (ОАО «Белмедпрепараты» г. Минск) в количестве 0,3 мл с рН 1,2. Препарат содержит соляную кислоту и протеолитический фермент пепсин. После этого животного в течение 1 часа проводили ИВЛ аппаратом «TSE Animal respirator Process Control O2-25» производства компании Technical Scientific Equipment, Германия с параметрами: поток — 0,5 л/мин, ЧД=60 в минуту, инспираторное давление 30 мм вод. ст., процентное соотношение времени вдоха к времени плато 40:10. Крыс наблюдали в течение 1, 3, 6 и 24 часов. В каждой подгруппе было 6 животных. Мониторировалось процентное содержание кислорода в выдыхаемом воздухе. Крыс выводили из эксперимента раствором тиопентал натрия, проводилось их вскрытие. Кусочки легких фиксировали в 10% растворе формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Контрольную группу составили крысы [6], которым проводили ИВЛ, но не было факта аспирации.

Результаты и обсуждение

Непосредственно после введения препарата у крыс отмечался диффузный цианоз, снижалось потребление кислорода. Его процентное содержание в выдыхаемом воздухе возрастало с 15 до 18,5%. В течение 5—10 минут степень цианоза уменьшалась, и через 20—30 минут потребление кислорода частично восстанавливалось (до 16—17%), а через 20—25 минут вновь несколько снижалось.

Морфологические изменения в легких были выявлены у всех крыс, у которых моделировали аспирационное острое повреждение легких. В ранней стадии эксперимента (через 1 час) в просветах крупных бронхов и бронхиолах (включая респираторные) выявляются пласты слущенного эпителия слизистой оболочки, макрофаги, лимфоидные клетки, эритроциты.

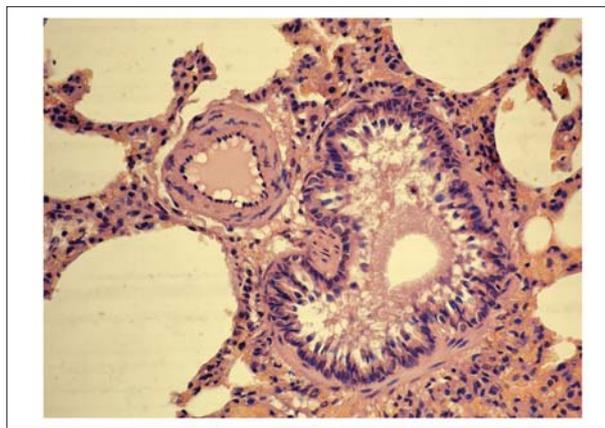


Рис. 1. В просвете бронха секрет и слущенные эпителиальные клетки. Один час после аспирации ацидо-пепсина. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 200.

В цитоплазме макрофагов видны включения фрагментов ядер. Некоторые бронхиолы расширены, складчатость слизистой оболочки отсутствует. В просветах бронхов содержится секрет, частично обтурирующий просветы бронхов и бронхиол (рис. 1). Реснички призматического эпителия укорочены, многие эпителиальные клетки не содержат ресничек. Вокруг отдельных мелких бронхов видны небольшие скопления нейтрофильных лейкоцитов. Многие альвеолярные ходы расширены. Альвеолы имеют различный диаметр. Отмечается очаговое расширение альвеол (особенно в субплевральных отделах). В то же время обнаруживаются очаговые дистелектазы и микроателектазы. В просветах некоторых альвеол видны макрофаги, эритроциты, единичные нейтрофильные лейкоциты. Выявляются очаговые альвеолярные кровоизлияния. В части альвеол, расположенных субплеврально, содержится отечная жидкость. Межальвеолярные перегородки в участках эмфиземы истончены. Контуры многих межальвеолярных перегородок неровные: участки расширения чередуются с участками сужения. Капилляры межальвеолярных перегородок неравномерно полнокровны. В межальвеолярных перегородках увеличено содержание клеток: нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов, лимфоцитов. В просветах части капилляров видны эритроциты, в других они не выявляются. Утолщенные межальвеолярные перегородки отечны, в них обнаруживаются кровоизлияния. Легочные артерии умеренно полнокровны. Эндотелиальные клетки набухшие, их ядра выступают в просвет сосудов. Некоторые эндотелиальные клетки отслаиваются от базальной мембраны с образованием щелевидных пространств. Ядра части эндотелиальных клеток не окрашены. Отмечается отек субэндотелиального и мышечного слоя легочных артерий с отслоением эндотелия и расслоением слоев мышечной стенки сосудов. В просветах мелких ветвей легочной артерии обнаруживаются небольшие скопления сегментоядерных лейкоцитов. Вены и венулы умеренно расширены, полнокровны. Просветы артериовенозных анастомозов не расширены. Лимфатические сосуды, расположенные субплеврально и в адвентиции крупных ветвей легочной артерии, расширены. Периваскулярная соединительная ткань отечна.

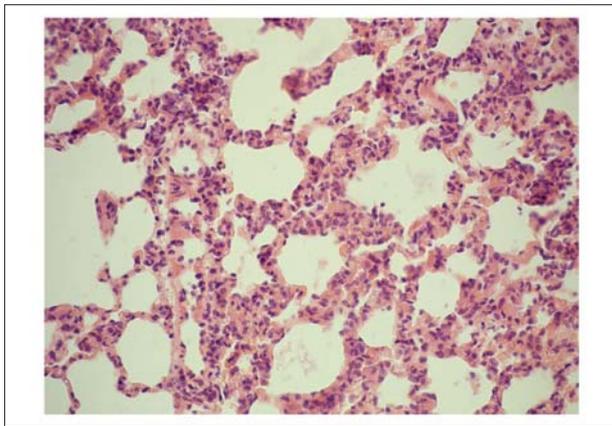


Рис. 2. Инфильтрация межальвеолярных перегородок сегментарными лейкоцитами через 3 часа после аспирации. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув.400.

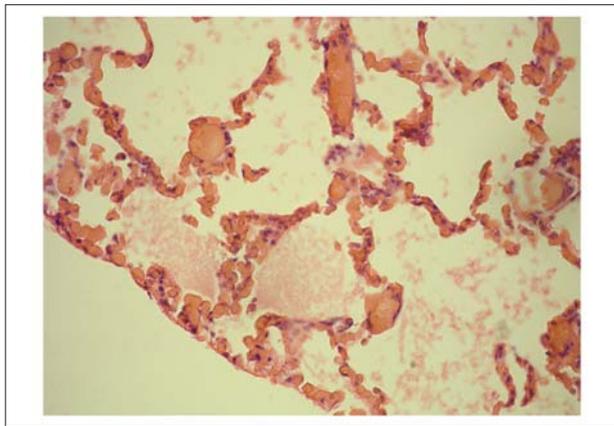


Рис. 4. Альвеолярный отек через 3 часа после аспирации. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув.400.

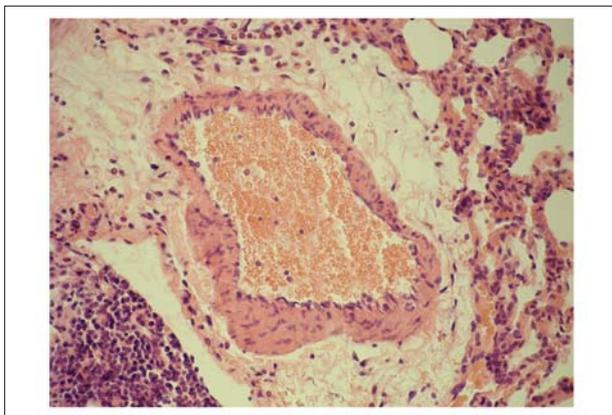


Рис. 3. Периваскулярный отек через 3 часа после аспирации. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув.400.

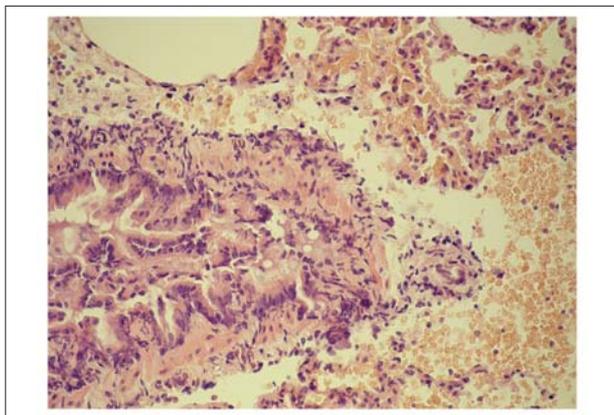


Рис. 5. Кровоизлияния в альвеолы, обтурация просвета бронха слущенным эпителием. 6 часов после аспирации. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

Через 3 часа после аспирации ацидин-пепсина отмечается повышенная продукция секрета эпителием слизистой оболочки бронхов. В просветах крупных бронхов и бронхиол содержится секрет, слущенные эпителиальные клетки, которые обтурируют просветы части бронхиол. Усилена складчатость слизистой оболочки некоторых бронхов, в результате чего бронхи приобретают звездчатую форму. В то же время другие бронхи расширены, их слизистая оболочка сглажена, просветы свободны. Ядра эпителиальных клеток слизистой оболочки бронхов окрашены неравномерно: некоторые ядра гиперхромны, другие, напротив, гипохромны. В части клеток ядра не окрашены. Апикальный отдел эпителиальных клеток эозинофильный, гомогенный, реснички не просматриваются. Отмечается расширение альвеолярных ходов. Просветы альвеол неодинаковы. Часть альвеол расширена (преимущественно в субплевральных отделах). Выявляются очаговые дистелектазы. В участках легких, где просветы бронхов закрыты секретом и слущенными эпителиальными клетками, обнаруживаются массивные ателектазы. В просветах альвеол содержатся эритроциты. Обнаруживаются многочисленные, в том числе обширные, альвеолярные кровоизлияния. Межальвеолярные перегородки истончены в зонах острой

эмфиземы. В других участках они утолщены за счет клеточной инфильтрации (нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами) и отека (рис. 2). В этих отделах альвеолы имеют небольшой диаметр просвета. Капилляры межальвеолярных перегородок неравномерно полнокровны. Легочные артерии умеренно полнокровны. Вены и венулы расширены, полнокровны. Лимфатические сосуды (периваскулярные) умеренно расширены. Соединительная ткань отечна (рис. 3), обнаруживаются периваскулярные кровоизлияния, массивная лейкоцитарная инфильтрация, межальвеолярных перегородок и межочной ткани. В части альвеол обнаруживается отечная жидкость (рис. 4).

Через 6 часов от начала эксперимента часть бронхов расширена, слизистая оболочка их сглажена, просветы свободны. Другая часть бронхов и бронхиол неправильной формы, их просветы сужены, содержат слущенные эпителиальные клетки и секрет (преимущественно в мелких бронхах и бронхиолах) (рис. 5). Ядра слущенных эпителиальных клеток пикнотичны или не окрашены. Обнаруживаются апоптотические тельца. Альвеолы различного размера. Преобладают альвеолы небольших размеров. Очаги эмфиземы (рис. 6) чередуются с участками ателектазов и дистелектазов. В участках эмфиземы отмечается расшире-

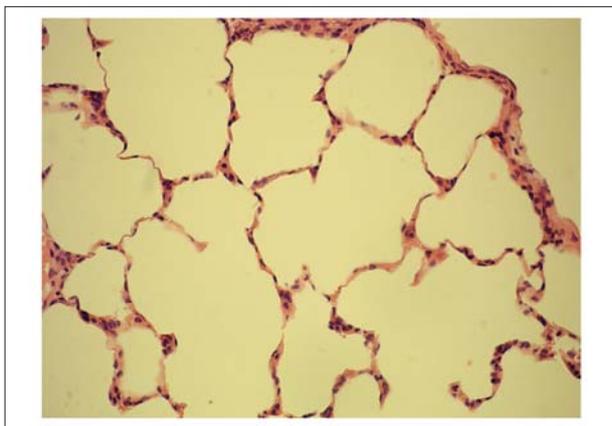


Рис. 6. Острая эмфизема. Через 6 часов после аспирации. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

ние пор Кона. Большинство межальвеолярных перегородок утолщены за счет отека, полнокровия капилляров и клеточной инфильтрации. Выявляются очаговые альвеолярные кровоизлияния. Отмечается умеренный отек периваскулярной соединительной ткани. Вены и венулы расширены, полнокровны.

Через 24 часа после моделирования аспирации отмечается прогрессирование морфологических изменений. Просветы части бронхов обтурированы слущенным эпителием. Кроме этого, в их просветах содержится секрет, эритроциты. Многие бронхи деформированы, просветы неправильной формы, значительно уменьшены. Наряду с расширенными альвеолами выявляются дистелектазы и ателектазы. Обнаруживаются альвеолярные кровоизлияния, участки альвеолярного субплеврального отека. В части альвеол выявляются макрофаги. Межальвеолярные перегородки утолщены за счет клеточной инфильтрации. Капилляры и венулы резко полнокровны, в них повышено содержание сегментоядерных лейкоцитов. Регистрируется периваскулярный отек и клеточная инфильтрация соединительной ткани.

В контрольной группе животных морфологических изменений, характерных для острого повреждения легких (системная воспалительная реакция, интерстициальный и альвеолярный отек легких) не наблюдалось.

Снижение потребления кислорода у крыс в начале эксперимента обусловлено рефлекторным бронхоспазмом.

Литература

1. Власенко А. В. Этиология и патогенез острого паренхиматозного повреждения легких у больных в критическом состоянии. В кн.: Фундаментальные проблемы реаниматологии. Сб. тр. ГУ НИИ Общей реаниматологии РАМН. М.; 2003; 3. 36–58.
2. Ware L. B., Matthay M. A. The acute respiratory distress syndrome. N. Engl. J. Med. 2000; 342: 1334–1349
3. Adnet F., Baud F. Relation between Glasgow coma and aspiration pneumonia. Lancet 1996; 348: 123–124
4. Huxley E. J., Viroslav J., Gray W. R. et al. Pharyngeal aspiration in normal adults and patients with depressed consciousness. Am. J. Med. 1978; 64: 564.
5. Рябов Г. А. Синдромы критических состояний. М.: Медицина; 1994: 168.
6. Грютти М. А. Патогизиология легких. М., СПб: Бином; 2001. 19–43.
7. Folkesson H. G., Matthay M. A. et al. Acid aspiration-induced lung injury in rabbits in mediated by interleukin-8-dependent. J. Clin. Invest. 1995; 96 (1): 107–116.

Частичное восстановление усвоения кислорода связано с разрешением бронхоспазма, включением компенсаторных механизмов — использование в оксигенации резервных альвеол. В дальнейшем потребление кислорода снижается в связи с развитием ателектазов вследствие прямого повреждения альвеол, снижением легочной перфузии. При исследовании гистологических срезов выявлены признаки острого повреждения легких, которое в ответ на действие повреждающего фактора проявлялось системной воспалительной реакцией (инфильтрация межальвеолярных перегородок нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами) и развитием интерстициального и альвеолярного отека легких. Повреждение эпителия слизистой оболочки бронхов, по всей вероятности, является следствием прямого воздействия ацидо-пепсина. В ответ на это происходит выброс биологически активных веществ, в том числе провоспалительных интерлейкинов, которые приводят к привлечению сегментоядерных лейкоцитов (интерлейкин-8, являющийся фактором хемотаксиса нейтрофилов), повышению проницаемости и развитию отека легких. В связи с этим происходит сгущение крови, расстройство микроциркуляции. Острая эмфизема является компенсаторным механизмом. Ателектазы, дистелектазы возникают при обтурации бронхиол секретом, слущенными эпителиальными клетками, при повреждении альвеолоцитов II типа, ответственных за синтез и секрецию сурфактанта [11]. В связи с этим возрастает мертвое пространство, повреждается эндотелий, нарушаются вентиляционно-перфузионные соотношения, увеличивается внутрилегочный шунт, что приводит к прогрессирующей гипоксии [12, 13]. В интерстиций поступает вода, электролиты, альбумин, форменные элементы крови [14], что способствует прогрессированию интерстициального отека.

Заключение

В результате аспирации ацидин-пепсина у крыс развиваются морфологические изменения, характерные для острого повреждения легких. Выявляются инфильтрация межальвеолярных перегородок нейтрофильными лейкоцитами, развитие интерстициального и альвеолярного отека, расстройства кровообращения (кровоизлияния, полнокровие), повреждение эпителия бронхов, которые регистрировались через час после начала эксперимента.

8. Goldman G., Welbourn R. et al. Tumor necrosis factor-alpha mediates acid aspiration-induced systemic organ injury. Ann. Surg. 1990; 212 (4): 513–519.
9. Chendrasekhar A., Prabhakar G., Timberlake G. A. Alveolar cytokine responses to aspiration of gastric content. FASEB J. 1996; 10: 108.
10. Modelska K., Pittet J. F. et al. Acid-induced lung injury: protective effect of anti-interleukin-8 pretreatment on alveolar epithelial barrier function in rabbits. Am. J. respire crit. care med. 1999; 160: 1450–1456.
11. Ерохин В. В. Функциональная морфология респираторного отдела легких. М.: Медицина; 1987. 215–216.
12. Мальшев В. Д. Острая дыхательная недостаточность. М.: Медицина; 1989. 170.
13. Demling R. H. Adult respiratory distress syndrome; current concepts. New Ho-ris. Sci. and Pract. Acute Med. 1993; 1 (3): 388–401.
14. Кассиль В. Л., Золотокрылина Е. С. Острый респираторный дистресс-синдром. М.: Медицина; 2006. 39–41.

Поступила 03.03.08