

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ «ОТКРЫТИЯ» АЛЬВЕОЛ

А. М. Голубев, В. В. Мороз, Ю. Г. Зорина, Ю. В. Никифоров

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва

Morphological Assessment of the Safety of Alveolar Opening

A. M. Golubev, V. V. Moroz, Yu. G. Zorina, Yu. V. Nikiforov

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

Цель исследования. Морфологическая оценка безопасности метода мобилизации альвеол. **Материал и методы.** Эксперименты проведены на 46 белых беспородных крысах-самцах массой 280–320 г. Для наркоза использовали тиопентал натрия интратрибушно (15–20 мг/кг массы животного). ИВЛ проводили респиратором «TSE Animal Respirator» в течение 30–180 минут. Параметры вентиляции I опытной группы: поток = 0,4–0,5 л/мин, ЧД = 60 в мин, ДО = 1–5 мл, ПДКВ (во время открытия альвеол) = 40 см вод. ст. (40 секунд), ПДКВ (после рекруитмента) = 10 см вод. ст. (20 минут). Рекруитмент проводился с интервалом 20 минут в течение 1–3 часов. Животным опытной группы 2 проводили ИВЛ с параметрами вентиляции: поток = 0,4–0,5 л/мин, ЧД = 60 в мин, ДО = 1–5 мл, ПДКВ (во время открытия альвеол) = 20 см вод. ст. (20 секунд), ПДКВ (после рекруитмента) = 10 см вод. ст. (20 минут). Животным контрольной группы проводили ИВЛ с параметрами вентиляции: поток = 0,4–0,5 л/мин, ЧД = 60 в мин, ДО = 1–5 мл, ПДКВ = 0 см вод. ст. Кусочки легких фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, проводилась ШИК-реакция. **Результаты.** При гистологическом исследовании легких животных опытной группы отмечается расширение альвеол и бронхиол. Увеличение объема альвеол при высоком потоке воздуха и ПДКВ приводит к повреждению аэрогематического барьера, инфильтрации межальвеолярных перегородок лейкоцитами, нейтрофилами, макрофагами, развитию интерстициального и альвеолярного отека. У животных II опытной группы морфологические изменения в легких были выражены в меньшей степени. **Заключение.** Метод открытия альвеол улучшает показатели газообмена, подтверждаемые повышением утилизации кислорода. Высокие значения ПДКВ сопровождаются более выраженными морфологическими изменениями в легких. **Ключевые слова:** рекруитмент альвеол, «открытые легкие», ПДКВ.

Objective: The safety of an alveolar mobilization technique was morphologically evaluated. **Materials and methods.** Experiments were made on 46 non-inbred albino male rats weighing 280–320 g. Thiopental sodium (15–20 mg/kg animal weight) was intraperitoneally injected for anesthesia. A TSE Animal Respirator was employed for 30–180 minutes. In the first experimental animal group, the ventilation parameters were as follows: air flow 0.4–0.5 l/min; respiration rate 60 per min; tidal volume 1–5 ml; PEEP (during alveolar opening) 40 cm H₂O (40 seconds); PEEP (after recruitment) 10 cm H₂O (20 minutes). Recruitment was carried out at 20-minute intervals for 1–3 hours. Experimental Group 2 animals underwent artificial ventilation (AV) with the following ventilation parameters: air flow 0.4–0.5 l/min; respiration rate 60 per min; tidal volume 1–5 ml; PEEP (during alveolar opening) 20 cm H₂O (20 seconds); PEEP (after recruitment) 10 cm H₂O (20 minutes). The control animals had AV with the ventilation parameters: air flow 0.4–0.5 l/min; respiration rate 60 per min; tidal volume 1–5 ml; PEEP 0 cm H₂O. Lung pieces were fixed in 10% neutral formalin solution and embedded in paraffin. The histological specimens were stained with hematoxylin and eosin; the Schick test was carried out. **Results.** Histological study of the lung from the experimental group animals has shown dilated alveoli and bronchioli. The increased alveolar volume at a high air flow and PEEP leads to air-blood barrier damage, alveolar septal infiltration with leukocytes, neutrophils, and macrophages, and to the development of interstitial and alveolar edema. Lung morphological changes were less pronounced in the animals from the second experimental group. **Conclusion.** The alveolar opening technique improves gas exchange parameters, as evidenced by oxygen utilization. The high PEEP values are attended by more significant lung morphological changes. **Key words:** alveolar recruitment, open lungs, PEEP.

Дыхательная недостаточность является одной из наиболее частых причин критических состояний, а респираторная поддержка является одним из основных методов интенсивной терапии острой дыхательной недостаточности (ОДН). Однако, являясь незаменимым способом временного протезирования функции внешнего дыхания, ИВЛ имеет целый ряд отрицательных эффектов, реализующихся в легких, в результате баротравмы, волюмотравмы, ателектотравмы, токсического влияния O₂, биотравмы [1].

Еще 30 лет назад Н. Н. Webb и D. F. Tierney [2] описали повреждения легких, обусловленные длительной ИВЛ, но до настоящего времени подбор оптимального

режима ИВЛ остается трудной задачей. К тому же первоначально отрицательные эффекты ИВЛ реализуются в интактных и менее поврежденных зонах легочной ткани, а чем тяжелее повреждение легких, тем более агрессивные параметры респираторной поддержки приходится использовать для обеспечения адекватного газообмена.

Поэтому основными задачами респираторной поддержки у больных с ОДН является не только обеспечение адекватного газообмена в легких, но и уменьшение повреждающего влияния самой ИВЛ.

Последние 10 лет большое внимание уделяется респираторной поддержке и, в частности, применению

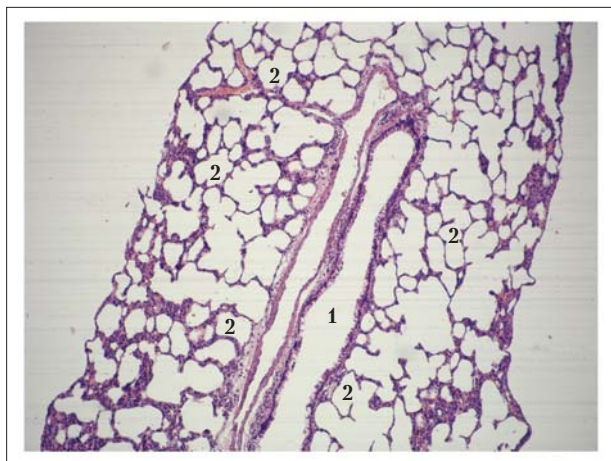


Рис. 1. Расширение бронха (1) и альвеол (2). Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 100.

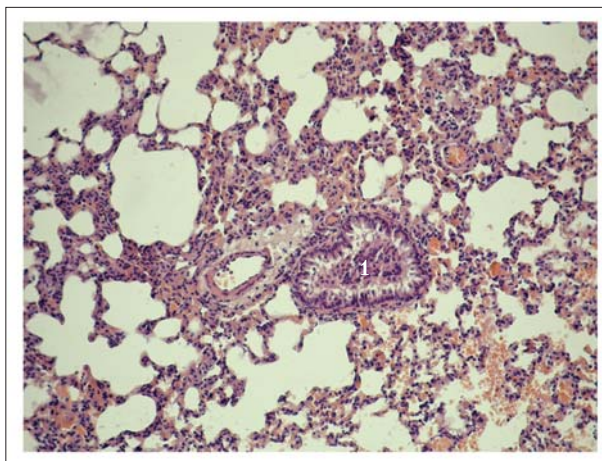


Рис. 2. В просвете бронха пласти слущенного эпителия (1). Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 200.

концепции «открытых легких». Основные положения этой концепции были представлены в публикациях голландского исследователя В. Lachmann [3–5] и могут быть сформулированы следующим образом. Под понятием «открытые легкие» понимается такое состояние легких, при котором не выявляются ателектазы, фракция шунтирования составляет менее 10% и $PaO_2 > 450$ при подаче 100% O_2 . Основой концепции «открытых легких» является закон Лапласа, согласно которому давление, которое изначально требуется для изменения объема альвеол, зависит от их радиуса, т. е. давление обратно пропорционально размеру альвеол, следовательно, для того, чтобы «раздуть» большие альвеолы, нужно меньше усилий, чем для спавшихся альвеол. Из того же закона следует вывод о том, что давление, поддерживающее альвеолы в расправленном состоянии тем меньше, чем выше функциональная остаточная емкость (ФОЕ) легких. Поэтому ПДКВ, которое необходимо для стабилизации объема легких в конце выдоха, можно свести к минимуму, если они полностью расправлены (т. е. их ФОЕ максимально приблизить к ФОЕ здоровой легочной ткани). Практически, рекрутирующий маневр — это открытие спавшихся альвеол высоким давлением вдоха в течение 10 дыхательных циклов и поддержанием альвеол и бронхиол в расправленном состоянии за счет оптимального ПДКВ. В настоящее время используются несколько протоколов выполнения маневра «открытия легких»: 1 — кратковременное увеличение постоянного положительного давления в дыхательных путях до 40 см вод. ст. в течение 40 секунд; 2 — кратковременное увеличение постоянного положительного давления в дыхательных путях до 20 см вод. ст. в течение 20 секунд; 3 — периодическое повышение ДО; 4 — пошаговое повышение ПДКВ; 5 — ViPAP; 6 — высокочастотная вентиляция (ВЧВ). В то же время, среди исследователей нет единого мнения о наиболее безопасном и эффективном методе проведения рекрутирующей вентиляции.

В связи с этим, целью нашего исследования явилась морфологическая оценка безопасности метода рекрутирования альвеол.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 46 белых беспородных крысах-самцах массой 280–320 г. Для наркоза использовали тиопентал натрия внутривенно (15–20 мг/кг массы животного). После наркотизации интубировали трахею (или выполняли трахеостомию) и проводили ИВЛ воздухом респиратором «TSE Animal Respiator» в течение 30–180 минут. Животным опытной группы I проводили ИВЛ с параметрами вентиляции: поток = 0,4–0,5 л/мин, ЧД = 60 в мин, ДО = 1–5 мл, ПДКВ (во время открытия альвеол) = 40 см вод. ст. (40 секунд), ПДКВ (после рекрутмента) = 10 см вод. ст. (20 минут). Животным опытной группы II проводили ИВЛ с параметрами вентиляции: поток = 0,4–0,5 л/мин, ЧД = 60 в мин, ДО = 1–5 мл, ПДКВ (во время открытия альвеол) = 20 см вод. ст. (20 секунд), ПДКВ (после рекрутмента) = 10 см вод. ст. (20 минут). Животным контрольной группы проводили ИВЛ с параметрами вентиляции: поток = 0,4–0,5 л/мин, ЧД = 60 в мин, ДО = 1–5 мл, ПДКВ = 0 см вод. ст. Далее крыс выводили из эксперимента введением тиопентала натрия. Кусочки легких фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, проводилась ШИК-реакция. Выполняли морфометрические исследования с измерением диаметра альвеол, толщины межальвеолярных перегородок, подсчета числа клеток на 1000 μm^2 межальвеолярных перегородок и последующей статистической обработкой с вычислением $M \pm \sigma$ и использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В первой серии экспериментов с использованием ПДКВ 40 см вод. ст. и продолжительностью опытов в течение 1 часа отмечается повышение утилизации кислорода в выдыхаемом воздухе с $19,0 \pm 1,1\%$ до $14,1 \pm 1,3\%$ ($p < 0,01$). При гистологическом исследовании регистрируется расширение бронхов, включая терминальные и респираторные бронхиолы (рис. 1). Эпителиальная выстилка бронхов сохранена. Многие эпителиальные клетки с неровной апикальной поверхностью. Отмечается отслоение апикальных фрагментов цитоплазмы и их свободное расположение в просветах бронхов. Реснички призматического эпителия на некоторых участках слизистой оболочки разрежены, укорочены. В просветах некоторых бронхиол содержатся комплексы слущенных эпителиальных клеток (рис. 2), эозино-

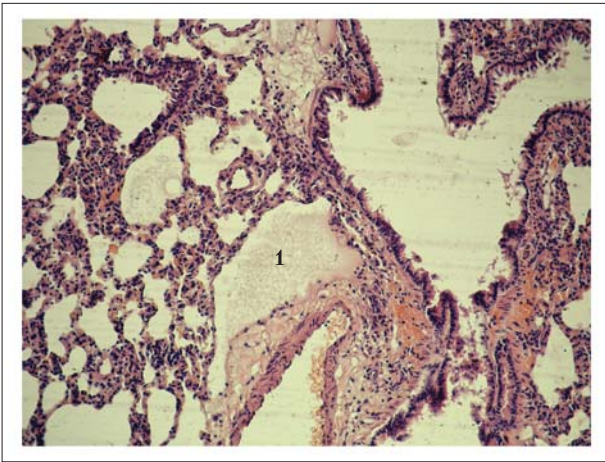


Рис. 3. Расширенный лимфатический сосуд (1). Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 200.

фильное мелкозернистое содержимое (секрет), эритроциты. При переходе респираторных бронхиол в альвеолярные ходы их суженная часть закрыта секретом. Расширенные бронхи имеют округлую форму, их слизистая оболочка сглажена. В то же время некоторые бронхи имеют неправильную форму, их слизистая оболочка образует выраженные складки.

Альвеолярные ходы и многие альвеолы расширены, просветы их свободны. Диаметр таких альвеол составляет $136,4 \pm 27,1$ мкм. Выявляются участки в легких, где альвеолы уменьшены в диаметре. Просветы большинства из них свободны, но в некоторых обнаруживается слабоэозинофильное содержимое, располагающееся на внутренних стенках межальвеолярных перегородок. В части альвеол выявляются эритроциты.

В зонах легких, где альвеолы расширены, многие межальвеолярные перегородки тонкие. Их диаметр составляет $4,5 \pm 0,6$ мкм. Наряду с этим толщина части межальвеолярных перегородок не изменена по сравнению с таковыми контрольных животных ($7,9 \pm 1,01$ мкм). Выявляются участки легких, где межальвеолярные перегородки утолщены ($19,2 \pm 2,2$ мкм; $p < 0,05$) по сравнению с контролем. На территории межальвеолярных перегородок выявляется большое количество клеток: сегментоядерных лейкоцитов, макрофагов, лимфоцитов. Численность клеток на 1000 мкм² составляет $12,4 \pm 3,5$ (контроль — $6,7 \pm 1,9$; $p < 0,05$). Утолщение межальвеолярных перегородок обусловлено клеточной инфильтрацией, отеком, полнокровием капилляров. В участках утолщения межальвеолярных перегородок альвеолы уменьшены в размерах, их диаметр равен $47,1 \pm 7,9$ мкм (контроль — $86,2 \pm 10,1$ мкм; $p < 0,05$). Обнаруживаются микроателектазы.

Легочные артерии умеренно полнокровны. Капилляры неравномерно полнокровны. В тех участках, где альвеолы не расширены, а также в зонах дистелектазов, наблюдается полнокровие капилляров и диапедез эритроцитов в альвеолы. В зонах расширения альвеол и истончения межальвеолярных перегородок капилляры малокровны. Вены и венулы умеренно полнокровны.

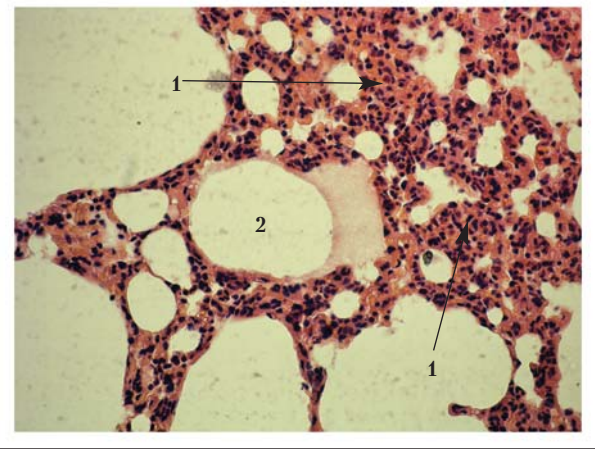


Рис. 4. Инфильтрация лейкоцитами и макрофагами межальвеолярных перегородок (1). Альвеолярный отек (2). Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

Ядра эндотелиальных клеток частично набухшие, выступают в просвет венул.

В этот период появляются признаки интерстициального отека, проявляющегося разрыхлением периваскулярной соединительной ткани вокруг некоторых сосудов. Артериовенозные анастомозы не расширены (за исключением единичных). Выявляются расширенные лимфатические сосуды (рис. 3).

Через 3 часа от начала эксперимента морфологические изменения нарастают. В просветах бронхов выявляются пласты слущенного альвеолярного эпителия, усиливается интерстициальный и альвеолярный отек, в просветах альвеол обнаруживаются эритроциты. Усиливается инфильтрация межальвеолярных перегородок лейкоцитами, макрофагами (рис. 4). Развиваются многочисленные микроателектазы (рис. 5). В то же время в других участках выявляются значительно расширенные альвеолы. Межальвеолярные перегородки в этих участках истончены (рис. 6).

Во второй серии экспериментов, где ПДКВ составлял 20 см вод. ст., отмечались менее выраженные морфологические изменения. Признаки периваскулярного отека развивались через три часа после начала эксперимента. Отечная жидкость в просветах альвеол не обнаруживалась. Признаки повреждения слизистой оболочки бронхов (гиперсекреция, слущивание эпителия бронхов) были выражены незначительно. Клеточная реакция также была менее выраженной.

Данные литературы свидетельствуют о том, что приемы открытия альвеол улучшают газообмен в легких за счет открытия спавшихся альвеол и поддержания их в открытом состоянии при помощи оптимального ПДКВ [6, 7]. Немногочисленные экспериментальные исследования подтверждают эффективность рекрутмента альвеол. М. Jeffrey et al. [8], используя оригинальную технику микроскопии *in vivo*, наблюдали за состоянием альвеол у животных в режиме реального времени во время проведения ИВЛ.

Целью исследования являлось определение состояния альвеол во время проведения приемов открытия

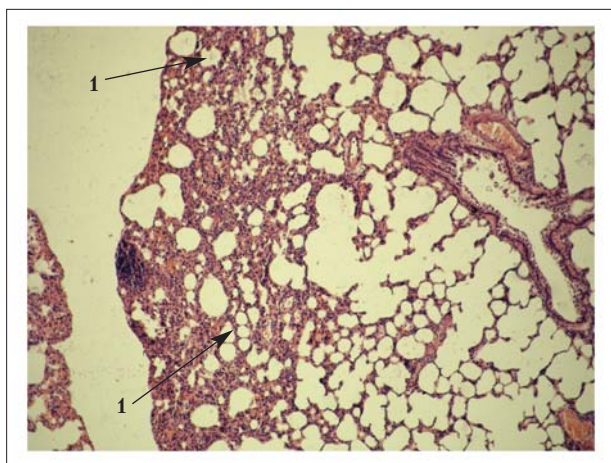


Рис. 5. Микроателектазы. Уменьшение диаметра альвеол в субплевральных отделах (1). Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 100.

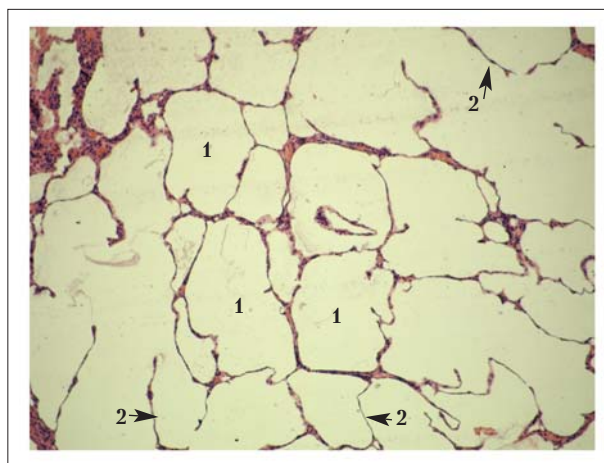


Рис. 6. Значительное расширение альвеол (1), истончение межальвеолярных перегородок (2). Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. 400.

альвеол, и определение уровня РЕЕР, необходимого для поддержания альвеол в открытом состоянии после проведения маневров. Эксперимент проводился на йоркширских свиньях и заключался в наблюдении за состоянием альвеол с помощью микроскопа. Оценивалось количество альвеол в поле зрения и их стабильность. Альвеолы существенно не меняли свой размер во время вентиляции, а поврежденные альвеолы спадались. Открытие альвеол осуществлялось повышением P_{peak} до 45 см вод. ст. и РЕЕР до 35 см вод. ст. в течение 1-й минуты. Далее, 1-я группа животных вентилировалась с РЕЕР 5 см вод. ст. после рекрутирования альвеол, а 2-я группа — с РЕЕР 10 см вод. ст. Улучшение оксигенации наблюдалось в обоих случаях, но при РЕЕР 5 см вод. ст. альвеолы находились в нестабильном состоянии, спадаясь на выдохе. РЕЕР в 10 см вод. ст. было достаточным для поддержания альвеол в стабильном состоянии и препятствовало их спадению. Следовательно, неадекватное РЕЕР после рекруитмента приводит к нестабильности альвеол и их повреждению.

В опытах на собаках исследовалось влияние традиционных режимов ИВЛ и маневров открытия альвеол на остаточный объем легких и оксигенацию крови с использованием различных моделей ОПЛ [9].

Литература

1. Голубев А. М., Мороз В. В., Лысенко Д. В. и др. ИВЛ-индуцированное острое повреждение легких. *Общая реаниматология* 2006; 2 (4): 8–12.
2. Webb H. H., Tierney D. F. Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures: protection by positive end-expiratory pressure. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1974; 110: 556–565.
3. Lachmann B. Open up the lung and keep the lung open. *Intens. Care Med.* 1992; 18: 319–321.
4. Lachmann B., Rajan N. G. New ventilatory strategies in intensive care. *Acta Anaesthesiol. Scand. (Suppl.)* 1997; 111: 69–74.
5. Lachmann B. Open Lung in ARDS. *Minerva Anesthesiol.* 2002; 68: 9: 637–642.
6. Еременко А. А., Левиков Д. И., Егоров В. М. и соавт. Применение маневра открытия легких у больных с острой дыхательной недостаточностью после кардиохирургических операций. *Общая реаниматология* 2006; 2 (1): 23–28.

В другой серии экспериментов [10] открытие альвеол достигалось подъемом РЕЕР до 20 см вод. ст. на 30 сек, а затем РЕЕР снижали до уровня, на 2 см превышающего значение, соответствующее нижней точке перегиба на кривой давление–объем. Было показано, что открытие альвеол значительно улучшает вентиляцию легких, устраняет регионарную гетерогенность аэрации и препятствует перерастяжению альвеол за счет более равномерного перераспределения дыхательного объема.

Выводы

1. При мобилизации альвеол путем кратковременного повышения ПДКВ до 40 вод. ст. в течение 40 секунд отмечалось расширение альвеол, десквамация эпителия бронхов, периваскулярный отек, кровоизлияния, развитие воспалительной реакции в конце первого часа после начала вентиляции.

2. При кратковременном повышении ПДКВ до 20 см вод. ст. на 20 секунд повреждения были менее выражены и характеризовались десквамацией эпителия бронхов и незначительным периваскулярным отеком. Признаки воспалительной реакции регистрировали только через три часа после начала вентиляции.

7. Власенко А. В., Остапченко Д. А., Шестаков Д. А. и соавт. Эффективность применения маневра «открытия легких» в условиях ИВЛ у больных с острым респираторным дистресс-синдромом. *Общая реаниматология* 2006; 2 (4): 50–59.
8. Halter J. M., Steinberg J. M., Schiller H. J. et al. Positive End-Expiratory Pressure after a Recruitment Maneuver Prevents Both Alveolar Collapse and Recruitment/Derecruitment. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 1620–1626.
9. Kloot T. E., Blanch L., Melynne Youngblood A. et al. Recruitment maneuvers in three experimental models of acute lung injury. Effect on lung volume and gas exchange. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161(5): 1485–1494.
10. Lim C. M., Soon Lee S., Seoung Lee J. et al. Morphometric effects of the recruitment maneuver on saline-lavaged canine lungs. A computed tomographic analysis. *Anesthesiology* 2003; 99 (1): 71–80.

Поступила 18.03.08