

В.Г. Изатулин, А.И. Провадо, Л.А. Украинская, О.Н. Шашкова, Л.А. Иванова

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАЛЛЕЛИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ И ОТРАВЛЕНИИ УКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

ГОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет «Росздрава» (Иркутск)

В условиях эксперимента исследованы изменения, наблюдающиеся в легких при иммобилизационном стрессе и отравлении уксусной кислотой. Установлено, что изменения в бронхолегочной системе носят схожий характер, так как в основе поражения лежит стрессорная альтерация паренхимы и стромы органа.

Ключевые слова: иммобилизационный, токсический стресс, отравление, уксусная кислота, альтерация легких

MORPHOFUNCTIONAL PARALLELS OF LUNG INJURY AT IMMOBILIZATION STRESS AND ACETIC ACID POISONING

V.G. Izatulin, A.I. Provado, L.A. Ukrainskaya, O.N. Shashkova, L.A. Ivanova

Irkutsk State Medical University (Irkutsk)

We investigated the changes which were observed in lungs at immobilization stress and acetic acid poisoning in experiment. As it was established, changes in respiratory system are similar, because in the basis of injury stressor alteration of organ's parenchyma and stroma lies.

Key words: immobilization stress, toxic stress, poisoning, acetic acid, lung alteration

Патология легких достаточно широко распространена и подробно изучена как клиницистами, так и морфологами. В последнее десятилетие появились отдельные исследования, посвященные поражению бронхолегочной системы при стрессорных воздействиях. Несмотря на то, что общепринятым стал термин «стрессорное легкое», до сих пор не существует полной характеристики изменений в легких при стрессе, количественно отражающей глубину стрессорной альтерации тканей легких [5].

Исследования, проведенные [4, 6], убедительно доказали, что отравления закономерно сопровождаются токсическим стрессом, в результате чего наблюдаются стресс-индуцированные поражения многих внутренних органов. Тем не менее, комплексных работ, направленных на изучение поражения легких при отравлениях не проводилось.

Цель исследования в эксперименте изучить структурно-функциональные нарушения в легких при иммобилизационном стрессе и отравлении уксусной кислотой и провести их сравнительный анализ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на двух сериях животных.

1. Серия (60 животных), которых подвергали воздействию 6-ти часового иммобилизационного стресса.

2. Серия (60 животных), у которых вызывали отравление уксусной кислотой.

Стресс моделировали 6 часовой иммобилизацией ненаркотизированных крыс в горизонтальном положении на спине. Система фиксации исключала повреждение кожных покровов и нарушение гемодинамики. Уровень стрессорного воздействия оценивали по изменению количества

эозинофилов крови, содержанию кортикостерона и пролактина.

В качестве яда прижигающего действия использовали 30% водный раствор уксусной кислоты в количестве 0,5 мл, что в пересчете на чистое вещество составляет менее LD25 для крыс, вызывая отравление легкой степени тяжести [2, 7].

Материал для исследования забирали на 1, 3, 5, 7, 10 и 14 сутки после начала стрессорного воздействия или приема токсического вещества. Фрагменты легкого фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили через спирты и заливали в парафин. Изготовленные микропрепараты окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по методу Ван-Гизон [3]. Ретикулярные волокна выявляли импрегнацией азотнокислым серебром по методу Бильшовского в модификации Юриной. Световую микроскопию и морфометрические исследования срезов проводили при увеличении в 200 раз по методике Г.Г. Автандилова [1]. В легких определяли объемную долю альвеол, межальвеолярных перегородок, внутриальвеолярного экссудата, кровеносных сосудов, коллагеновых и ретикулярных волокон, а также интенсивность лейкоцитарной инфильтрации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У первой группы животных при исследовании количества эозинофилов в периферической крови в течение 14 суток после стрессорного воздействия, выявлена закономерная динамика показателей. Через 24 часа после окончания 6-часовой иммобилизации развивается эозинофилия (снижение уровня эозинофилов в крови до $52,7 \pm 1,8$ кл/мкл). Затем следует резкое повышение количества эозинофилов с максимальными значениями через 39 часов — $418,3 \pm 7,7$ кл/мкл ($p < 0,05$). К третьим суткам после

иммобилизации количество эозинофилов вновь снижается до $105,3 \pm 4,2$ кл/мкл, затем постепенно повышается, приближаясь к седьмым суткам к показателям нормального биоритма животных (рис. 1).

Таким образом, с учетом динамики эозинофилов в крови после стрессорного воздействия, можно выделить основные периоды развития стресс-реакции: эозинопения (0–36 часов), соответствующая стадии тревоги; эозинофилия (36–39 часов), соответствующая переходу стадии тревоги в стадию резистентности; восстановление нормального биоритма уровня эозинофилов (после 39 часов) – стадия резистентности стресс-реакции.

При изучении гормонального статуса стрессированных экспериментальных животных выявлено, что изменения концентрации кортикостерона, пролактина также имеют определенную закономерность и соотносятся с динамикой эозинофилов в крови (рис. 1).

Через сутки после окончания стрессового воздействия уровень пролактина повышен до $116,3 \pm 2,17$ нмоль/л ($p < 0,05$). К 3-м суткам уровень гормона снижается до $84,4 \pm 1,35$ нмоль/л ($p < 0,05$). На 5-е сутки исследования концентрация пролактина в крови уменьшается до $70,8 \pm 1,24$ нмоль/л ($p < 0,05$). К 7-м суткам уровень гормона составляет $56,9 \pm 0,92$ нмоль/л. На 10-е и 14-е сутки наблюдения содержание пролактина в крови достигает нормальных значений ($p < 0,05$).

В легких, в стадию тревоги стресс-реакции, через 24 часа после окончания 6-часовой иммобилизации, объемная доля альвеол уменьшается до $65,2 \pm 1,14$ % от общего объема легочной паренхимы ($p < 0,05$). В просвете альвеол возрастает количество экссудата, объемная доля которого составляет $2,7 \pm 0,08$ % ($p < 0,05$). Объемная доля межальвеолярных перегородок увеличивается до $24,7 \pm 0,23$ % ($p < 0,05$). Также возрастает и объемная доля кровеносных сосудов. Полнокровие легких увеличивается практически в 2 раза ($p < 0,05$) (рис. 2). Происходит уменьшение объемной доли коллагеновых волокон до $2,91 \pm 0,15$ %, а ретикулярных волокон – до $5,44 \pm 0,23$ % ($p < 0,05$).

Спустя 48 часов после окончания иммобилизации объемная доля альвеол остается низкой. Умень-

шается объем внутриальвеолярного экссудата. Легкие полнокровны. Лейкоцитарная инфильтрация легочной паренхимы на этот срок исследования превышает нормальные значения – $5,8 \pm 0,16$ клеток на 10000 кв. мкм ($p < 0,05$).

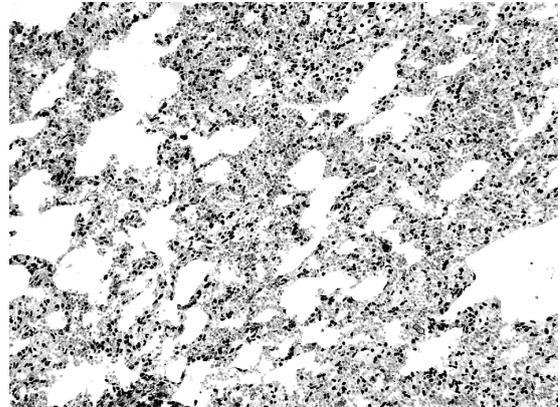


Рис. 2. Гистологическая структура легких крысы через сутки после стресса (стадия тревоги). Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

На 5-е сутки после острого стрессового воздействия отмечается начало нормализации структуры легких. Объемная доля альвеол увеличивается до $70,8 \pm 2,16$ %. В просвете альвеол уменьшается количество экссудата. Объемная доля межальвеолярных перегородок составляет $23,3 \pm 0,32$ %. Снижается объемная доля сосудов ($4,5 \pm 0,17$ %). Объемная доля коллагеновых и ретикулярных волокон составляет $3,31 \pm 0,17$ % и $5,83 \pm 0,16$ %, соответственно.

На 7–10-е сутки происходит дальнейшее восстановление структуры легких. Только лейкоцитарная инфильтрация в этот период остается стабильно высокой – $7,2 \pm 0,18$ клеток на 10000 кв. мкм ($p < 0,05$).

К 14-м суткам объемная доля альвеол составляет $74,8 \pm 1,17$ %. Количество внутриальвеолярного экссудата не отличается от исходных значений. Восстанавливается толщина межальвеолярных перегородок. Объемная доля сосудов составляет $3,7 \pm 0,16$ %. Объемные доли коллагеновых и ретикулярных волокон в этот срок исследования определяются на уровне $4,38 \pm 0,19$ % и $6,81 \pm 0,15$ %, соответственно.

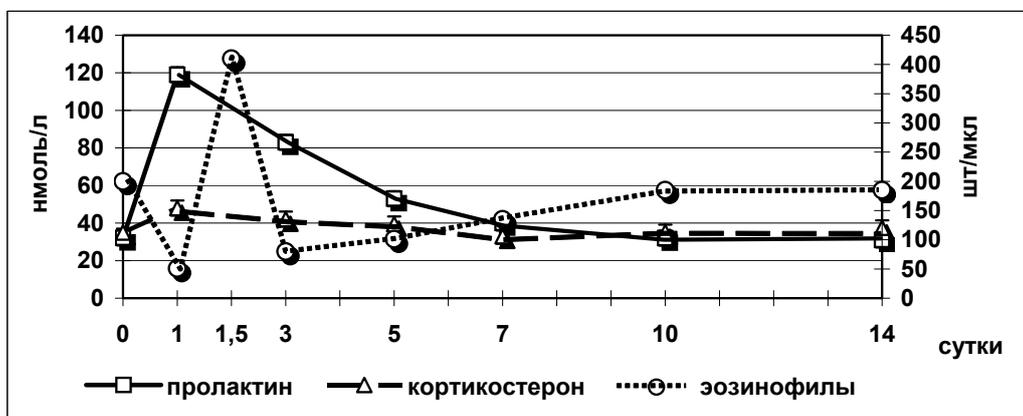


Рис. 1. Изменение уровня эозинофилов, пролактина и кортикостерона у экспериментальных животных при остром стрессе.

У второй группы животных при интрагастральном введении уксусной кислоты количество эозинофилов в крови через 24 часа снижается до $48,4 \pm 2,5$ кл/мкл ($p < 0,05$). Через 39 часов отмечается пик эозинофилии ($370,1 \pm 8,4$ кл/мкл), выраженность которого меньше, чем при действии иммобилизационного стресса ($p < 0,01$). Через 48 часов после затравки количество эозинофилов составляет $60,7 \pm 2,6$ кл/мкл, а на следующие сутки увеличивается до $214,8 \pm 3,1$ кл/мкл. С 5 по 14 сутки количество эозинофилов колеблется в пределах от $169,4 \pm 3,1$ до $265,2 \pm 4,1$ кл/мкл (рис. 3).

Повышение уровня кортикостерона в крови экспериментальных животных на вторые сутки достигает $46,9 \pm 1,12$ нмоль/л ($p < 0,05$). На третьи сутки концентрация гормона составляет $42,1 \pm 1,48$ нмоль/л ($p < 0,05$). Начиная с пятых суток, содержание кортикостерона в крови нормализуется (рис. 3).

Через 24 часа после затравки отмечается увеличение концентрации пролактина в крови до $121,9 \pm 4,24$ нмоль/л ($p < 0,05$). На третьи сутки этот показатель остается стабильно высоким, а с 5-х суток после интрагастрального введения уксусной кислоты отмечается снижение пролактина в крови до $96,1 \pm 3,82$ нмоль/л ($p < 0,05$). К седьмым суткам уровень гормона в крови достигает $72,5 \pm 2,09$ нмоль/л ($p < 0,05$). На 10-е и 14-е сутки отмечается дальнейшее снижение пролактина в крови — $43,9 \pm 1,18$ ($p < 0,05$) и $39,5 \pm 1,26$ нмоль/л, соответственно (рис. 3).

Через сутки после отравления у животных наблюдались признаки отека легких. Это выразалось в уменьшении объемной доли альвеол до $58,9 \pm 0,88\%$ от исходных значений ($p < 0,05$). В альвеолах присутствует экссудат, объемная доля которого составляет $9,6 \pm 0,17\%$ ($p < 0,01$). В просвете альвеол выявляются разрушенные эпителиальные клетки, эритроциты. Единичные альвеолы ателектазированы или полностью заполнены экссудатом. Отмечается утолщение межальвеолярных перегородок и увеличение их объемной доли до $25,6 \pm 0,91\%$ ($p < 0,05$), что связано с дистрофическими изменениями альвеолоцитов, эндотелия кровеносных сосудов и отеком интерстициальной ткани альвеол.

В результате развившегося отека и деструктивных изменений относительный объем коллагено-

вых и ретикулярных волокон в строме легких снижается до $2,25 \pm 0,13\%$ и $4,97 \pm 0,15\%$ ($p < 0,05$). Легкие экспериментальных животных полнокровны. Объемная доля сосудов возрастает до $8,9 \pm 0,28\%$ ($p < 0,05$). Паравазально определяется незначительная лейкоцитарная инфильтрация, составляющая в среднем $8,2 \pm 0,19$ клеток на 10000 кв. мкм.

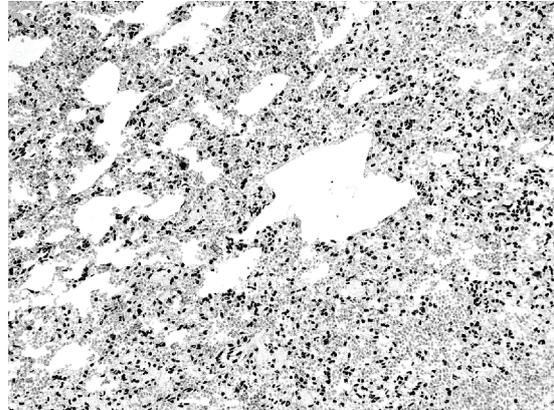


Рис. 4. Гистологическая структура легких крысы. Модель отравления. 3-и сутки после введения уксусной кислоты. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

На 3-и сутки после отравления уксусной кислотой в ткани легкого сохраняются признаки повреждения, причем по некоторым исследуемым параметрам оно усиливается. Так, объемная доля внутриальвеолярного экссудата увеличивается до $10,2 \pm 0,23\%$ ($p < 0,05$). Лейкоцитарная инфильтрация стромы легких возрастает до $10,6 \pm 0,14\%$ ($p < 0,05$). Объемная доля альвеол снижается до $57,2 \pm 0,96\%$ от исходных значений ($P < 0,05$). Объемная доля межальвеолярных перегородок составляет $25,2 \pm 0,40\%$ (рис. 4). Отмечается полнокровие легочных сосудов. Объемная доля кровеносных сосудов в этот период составляет $7,4 \pm 0,24\%$ ($p < 0,05$). Развивается периваскулярный отек тканей. В просвете сосудов продолжают определяться фрагменты эндотелия и эритроциты. Выявляются единичные кровоизлияния, как в интерстициальную ткань, так и в просвет альвеол. Следствием альтерации является снижение объемной доли коллагеновых волокон более чем в 2 раза ($p < 0,01$). Объемная

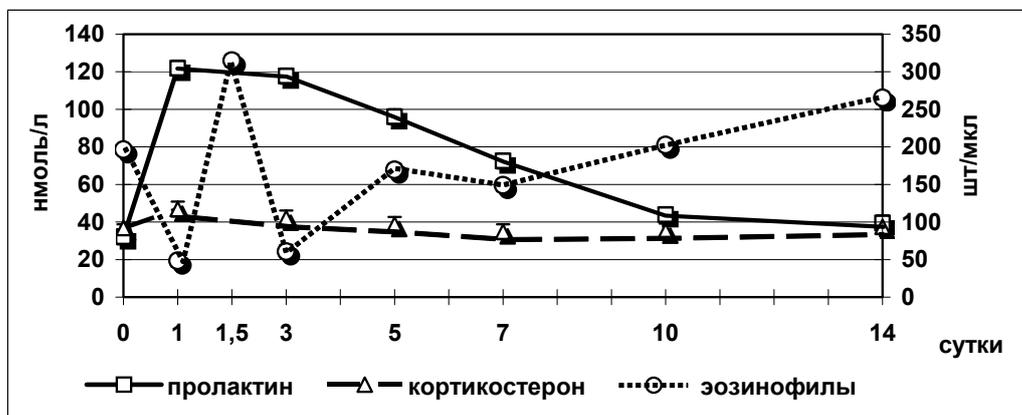


Рис. 3. Изменение уровня эозинофилов, кортикостерона и пролактина у животных 2-й группы.

доля ретикулярных волокон составляет $5,08 \pm 0,21 \%$ ($p < 0,05$).

На 5-е сутки при исследовании гистологической структуры легких у данной группы животных отмечается активизация репаративных процессов. Наблюдается увеличение объемной доли альвеол до $64,8 \pm 1,22 \%$. Уменьшается толщина межальвеолярных перегородок — их объемная доля составляет $23,5 \pm 0,62 \%$. Объемная доля интраальвеолярного экссудата все еще остается высокой и достигает $5,3 \pm 0,25 \%$. Легкие экспериментальных животных менее полнокровны, чем в предыдущие сроки. Объемная доля кровеносных сосудов уменьшается до $6,0 \pm 0,17 \%$. В сосудах определяются фрагменты эндотелиоцитов. Сохраняющаяся инфильтрация паренхимы легких представлена мононуклеарами, число которых составляет $7,4 \pm 0,16$ клеток на 10000 кв. мкм. Отмечается тенденция восстановления соединительнотканной стромы легкого в результате увеличения относительного объема коллагеновых и ретикулярных волокон до $3,65 \pm 0,25 \%$ и $5,28 \pm 0,19 \%$, соответственно ($p < 0,05$).

На 7-е сутки после введения токсического вещества отмечается дальнейшее увеличение объемной доли альвеол до $69,0 \pm 1,32 \%$ от исходных значений ($p < 0,05$). На этот показатель влияет как уменьшение толщины межальвеолярных перегородок за счет уменьшения отека тканей, так и снижение доли сосудистого компонента. Относительный объем кровеносных сосудов снижается до $4,6 \pm 0,19 \%$ ($p < 0,05$). Экссудат в альвеолах сохраняется и составляет $3,5 \pm 0,16 \%$ ($p < 0,01$). В просвете альвеол эритроциты не обнаруживаются, однако сохраняется небольшое количество эпителиальных клеток. Лейкоцитарная инфильтрация снижается и составляет $7,0 \pm 0,12$ клеток на 10000 кв. мкм ($p < 0,05$). Увеличивается объемная доля коллагеновых волокон до $4,01 \pm 0,14 \%$ ($p < 0,05$).

К 10-м суткам у экспериментальных животных объемная доля альвеол восстанавливается до $71,6 \pm 1,17 \%$. Объемная доля экссудата внутри альвеол уменьшается и составляет $1,4 \pm 0,11 \%$. Определяются единичные ателектазированные альвеолы, которые, вероятно, были изначально сильно повреждены, так как на данный срок исследования вокруг них отмечается локализация фибробластов. Объемная доля межальвеолярных перегородок составляет $22,5 \pm 0,26 \%$. Объемная доля кровеносных сосудов все еще превышает нормальные показатели и составляет $4,5 \pm 0,16 \%$ ($p < 0,05$). Периваскулярный отек уменьшается. В ткани легкого сохраняется инфильтрация, клеточные элементы представлены в основном лимфоцитами в количестве $6,3 \pm 0,15$ клеток на 10000 кв. мкм ($p < 0,05$). Объемная доля коллагеновых и ретикулярных волокон составляет $4,16 \pm 0,17 \%$ и $6,00 \pm 0,13 \%$, соответственно ($p < 0,05$).

На 14-е сутки наблюдается дальнейшее восстановление морфологической структуры легких. Объ-

емная доля альвеол составляет $72,4 \pm 0,84 \%$. Объемная доля экссудата внутри альвеол относительно невелика — $0,8 \pm 0,07 \%$ ($p < 0,05$). Эритроцитов и альвеолоцитов в экссудате не отмечается. Объемная доля межальвеолярных перегородок в сравнении с предыдущим сроком исследования не изменена. Объемная доля кровеносных сосудов составляет всего $4,1 \pm 0,14 \%$. Объемная доля коллагеновых и ретикулярных волокон составляет $4,60 \pm 0,22 \%$ и $6,42 \pm 0,16 \%$, соответственно ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного экспериментального исследования явно свидетельствуют, что изменения уровня эозинофилов, пролактина и кортикостерона при иммобилизационном стрессе и отравлении уксусной кислотой идентичны, что указывает на наличие токсического стресса при отравлении. Морфофункциональные изменения в паренхиме легких и строме имеют также сходные признаки и одинаковые закономерности развития. Это свидетельствует о том, что поражения легких при отравлении уксусной кислотой носит вторичный характер, и обусловлены не тропным действием яда, а вторичной стресс-индуцированной альтерацией паренхимы органа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. — М.: Медицина, 1990. — 383 с.
2. Лужников Е.А. Неотложные состояния при острых отравлениях (диагностика, клиника, лечение) / Е.А. Лужников, Ю.Н. Остапенко, Г.Н. Суходолова. — М.: Медпрактика, 2001. — 220 с.
3. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. — Л.: Медицина, 1969. — 377 с.
4. Провадо А.И. Морфофункциональные изменения в паренхиматозных органах при остром отравлении уксусной кислотой в различные стадии стресс-реакции: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Иркутск, 2007. — 21 с.
5. Украинская Л.А. Стресс-индуцированная альтерация легких и ее коррекция медиаторами и метаболитами стресс-лимитирующих систем: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Иркутск, 2002. — 18 с.
6. Шашкова О.Н. Морфофункциональные изменения костномозгового кроветворения и паренхиматозных органов, участвующих в регуляции гемопоэза, при отравлении этиленгликолем (клинико-морфологическое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Иркутск, 2002. — 26 с.
7. O'Neil M.J. The Merck Index / M.J. O'Neil // An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 13th Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc. — 2001. — P. 12.

Сведения об авторах:

Шашкова Ольга Николаевна — к.м.н., ассистент кафедры анатомии человека, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, ИГМУ. Тел. (3952) 24-07-72