

# УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

*О.Я. Бабак, Е.О. Крахмалова, В.П. Невзоров*

*Институт терапии имени Л.Т. Малої АМН Украины, г. Харьков  
Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины, Харьков*

**Ключевые слова:** хроническая легочная гипертензия, альвеолярный эпителий, аэрогематический барьер, ультраструктура, электронная микроскопия.

Изучение патогенетических механизмов развития вторичной легочной гипертензии (ЛГ), морфофункциональных изменений со стороны сердца, сосудов малого круга и системного венозного кровотока, особенностей гомеостаза, а также разработка тактики лечебно-профилактических мероприятий является актуальнейшей проблемой современной клиники внутренних болезней. Это обусловлено тем, что хроническую ЛГ могут вызвать самые разные патологические состояния. Первопричиной ее может быть патология левого сердца, с первичным повышением венозного легочного давления, а также поражение артериального звена легочного кровотока вследствие венозной тромбоэмболии, хронические обструктивные заболевания легких (ХОЗЛ), поражения печени, деформации грудной клетки и др [4—7]. Естественно, что особенности формирования ЛГ будут определяться прежде всего патофизиологическими нарушениями, характерными для основного заболевания. И вместе с тем, можно предположить, что на определенном этапе развития ЛГ обнаружится сходство в патоморфологических проявлениях ее различных типов [2, 8, 9].

В литературе достаточно хорошо описаны механизмы вазоконстрикции сосудов легких, роль сосудистого эндотелия в формировании хронической ЛГ [1, 2, 7]. Вместе с тем изменения в альвеолярном эпителии и альвеолярно-капиллярных мембранах оказывают не меньшее влияние на прогрессирование дыхательной недостаточности при данной патологии [1, 3].

Цель работы — изучить ультраструктурные изменения респираторных и секреторных альвеолоцитов, аэрогематического барьера и макрофагального звена альвеол у пациентов с ХОЗЛ и хронической постэмболической легочной гипертензией (ХПЭЛГ), осложнившихся вторичной хронической легочной гипертензией.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Материалом для электронно-микроскопического исследования послужили фрагменты ткани интактных отделов легких, взятые во время оперативного вмешательства у 12 пациентов (из них 7 женщин), которые были госпитализированы для хирургического лечения. Средний возраст составил  $(47,8 \pm 4,5)$  года. У 6 обследуемых изменения в легких стали следствием легочных осложнений рецидивирующих форм тромбоэмболии легочной артерии, у остальных на фоне ХОЗЛ. У 6 больных диагностирована карнификационная пневмония, у 4 — хроническая эмпиема плевры, у 2 — хронический геморрагический плеврит. Перед хирургическим вмешательством пациенты были обследованы методом эхокардиографии; у всех выявлены ультразвуковые признаки ЛГ (систолическое давление в правом желудочке, измеренное по градиенту трикуспидальной регургитации составило в среднем  $(52,7 \pm 6,5)$  мм рт. ст.), признаки гипертрофии и дилатации полости правого желудочка, нарушения кровотока в системе нижней полой вены.

Ткань легких для предварительной фиксации помещали в 3% буферный раствор глютарового альдегида при температуре 4°C. Для более быстрого проникновения фиксатора в ткань в пробирках создавали разрежение водоструйным насосом до того момента, пока воздух в альвеолах был вытеснен фиксатором, и кусочки ткани легких опускались на дно пробирки. После предварительной фиксации в течение 2—3 ч ткань отмывали в буферном растворе и помещали для окончательной фиксации в 1% буферный раствор четырехоксида осмия на 3—4 ч при температуре 4°C. В дальнейшем кусочки ткани обезживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) и заключали в блоки. Их полимеризацию производили в термостате при температуре 60°C в течение двух суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-6 изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100 БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате комплексного изучения ультраструктуры всех компонентов, формирующих респираторный отдел легкого, у больных ЛГ были обнаружены значительные дистрофические и деструктивные нарушения органелл.

В альвеолоцитах I типа обнаруживались округлые ядра с разрыхленной кариолеммой, хроматин которых находился в конденсированном состоянии и концентрировался вдоль ядерной мембраны. Отмечали уменьшение количества органелл в перинуклеарной зоне, выраженное набухание митохондрий, дезорганизация и укорочение крист. Зернистый эндоплазматический ретикулум альвеолоцитов I типа был представлен в виде единичных мембран, на поверхности которых определялись немногочисленные рибосомы. Свободных рибосом и полисом в цитоплазме практически не было. Размеры и форма цистерн зернистого эндоплазматического ретикулума варьировали в широких пределах. Отдельные участки мембран эндоплазматической сети были разрушены. В цитоплазме клеток содержалось незначительное количество микропиноцитозных пузырьков. Цитоплазма

тическая мембрана, выстилающая просвет альвеол, имела зоны деструкции, обладала высокой электронной плотностью и была разрыхлена.

Выраженные ультраструктурные нарушения выявлены в эндотелиоцитах азрогематического барьера. Их ядра приобретали вытянутую форму, хроматин ядра, хотя и сохранял мелкогранулярную структуру, неравномерно распределялся по площади среза. Наблюдалось повышение электронной плотности ядерной мембраны, а также сужение перинуклеарных пространств.

Цитоплазма эндотелиоцитов в перинуклеарной зоне содержала небольшое количество органелл, среди которых встречались деструктивно измененные митохондрии с небольшим количеством вакуолизированных крист и очагов разрушенными наружными мембранами. Нередко можно было наблюдать очаги разрушения ультраструктур эндотелиоцитов.

Указанные изменения являются причиной повышения проницаемости стенки капилляров, нарушений трансцеллюлярного транспорта веществ и диффузии газов. Наблюдалось существенное просветление гиалоплазмы и уменьшение содержания микропиноцитозных пузырьков. Нередко обнаруживался лизис плазматической мембраны, обращенной в просвет капилляра (рис. 1).

Указанные изменения свидетельствуют о существенных нарушениях метаболической активности эндотелиоцитов. Набухание цитоплазмы отростков альвеолоцитов I типа и эндотелиоцитов, сос-

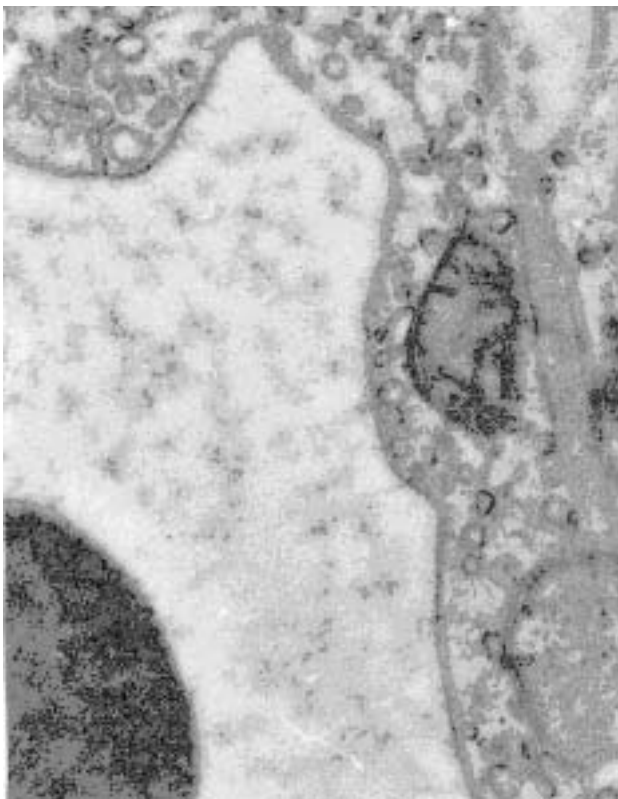


Рис. 1. Ультраструктура эндотелиоцитов азрогематического барьера легких больных легочной гипертензией. Лизис наружных мембран митохондрий.  $\times 49\ 000$



Рис. 2. Ультраструктура кровеносного капилляра альвеолы легких больных легочной гипертензией. Лизис мембраны эритроцита и плазмолеммы эндотелиоцита в месте их контакта.  $\times 54\ 000$

тавляючих аэрогемагический барьер, значительно влияют на диффузию кислорода.

Во многих местах отмечен феномен «прикрепления» к эндотелиоцитам эритроцитов, находившихся в просвете капилляра, с исчезновением в зоне контакта четкой структуры мембран эритроцитов и цитоплазматической мембраны эндотелиоцитов. Аналогичные нарушения были обнаружены и в зоне контакта цитоплазматической мембраны эндотелиоцитов с плазматическими мембранами тромбоцитов (рис. 2).

Выраженные дистрофические и деструктивные изменения выявлены и в альвеолоцитах II типа. Их ядра приобретали несколько вытянутую форму, некоторые имели глубокие инвагинации кариеолеммы. Гранулы хроматина и рибонуклеопротеидов диффузно распределялись по площади среза ядра, отмечалось неравномерное расширение перинуклеарных пространств. Значительное количество альвеолоцитов II типа содержали очаги лизиса внутриклеточных мембран и органелл.

Митохондрии локализовались преимущественно в перинуклеарном отделе цитоплазмы, значительно варьировали по размерам и форме, матрикс митохондрий представлял собой мелкозернистую субстанцию средней электронной плотности, зернистого эндоплазматического ретикулаума практически не было. Наружная мембрана некоторых митохондрий частично разрушена. Наблюдалась дезорганизация и вакуолизация крист (рис. 3).

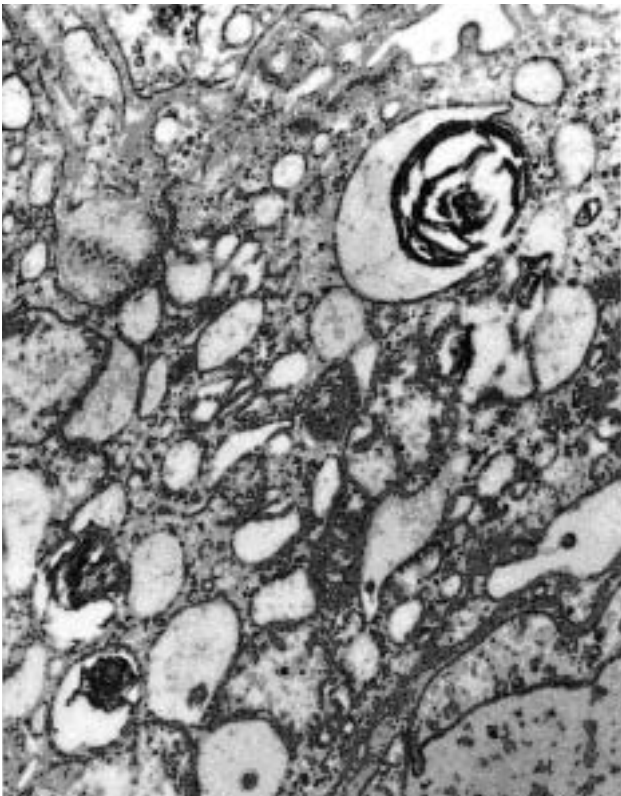


Рис. 3. Ультраструктура альвеолоцитов II типа легких больных легочной гипертензией. Деструкция внутриклеточных мембранных структур.  $\times 33\ 000$

Обращало внимание почти полное отсутствие в цитоплазме альвеолоцитов II типа мультивезикулярных телец, что является структурным подтверждением снижения белково-синтетической функции и нарушений фосфолипидного обмена, связанного с синтезом сурфактанта.

Мембранный компонент осмиофильных пластинчатых телец отличался высокой электронной плотностью. Скопления разрушенных цитофосфолипосом можно было обнаружить и в альвеолярном пространстве.

В альвеолярном пространстве выявлены десквамированные альвеолоциты II типа, с деструктивно измененными внутриклеточными мембранами и органеллами. В цитоплазме десквамированных альвеолоцитов наблюдались очаговый лизис плазматической мембраны, разрыхление и утолщение ядерной мембраны, разрушение крист митохондрий и присутствие больших электронно-прозрачных вакуолей. В них было небольшое количество осмиофильных пластинчатых телец, лишенных наружной мембраны. В альвеолярном пространстве выявлялись осмиофильные пластинчатые тельца.

Ультраструктурная организация альвеолярных макрофагов свидетельствовала о их высокой метаболической активности. Во всех отделах цитоплазмы в большом количестве находились мелкие митохондрии с обилием крист. В цитоплазме альвеолярных макрофагов было много свободных рибо-

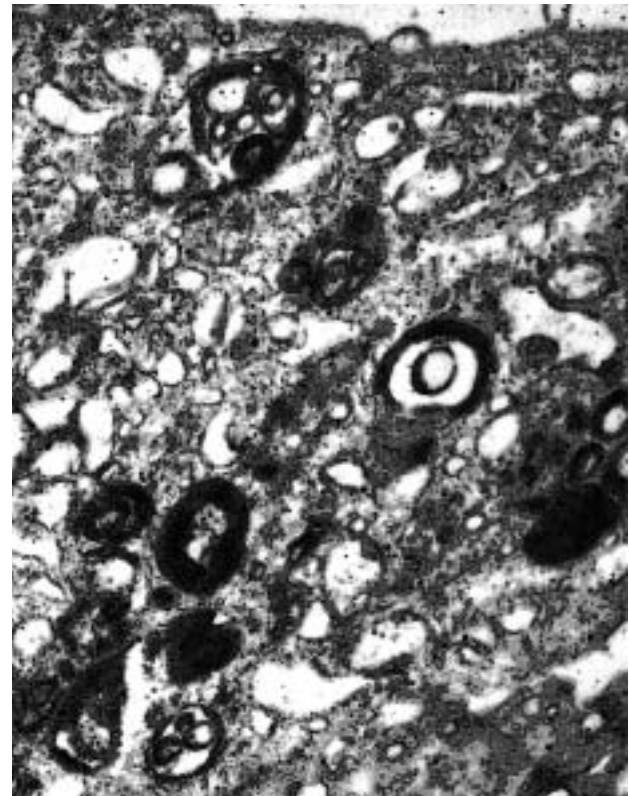


Рис. 4. Ультраструктура альвеолярных макрофагов легких больных легочной гипертензией. Увеличение количества рибосом, полисом и аутофагосом в цитоплазме.  $\times 36\ 000$

сом и полисом, осмиофильных включений, представленных лизосомоподобными структурами и фагосомами, с остатками фагоцитированного материала, деструктивно измененные фрагменты мембран и органелл, а также фагоцитированного сурфактанта (рис. 4).

Таким образом, выявленные изменения ультраструктуры альвеолоцитов I типа и эндотелиоцитов аэрогематического барьера у больных с хронической ЛГ носят компенсаторно-приспособительный характер и отражают напряженность процессов трансцеллюлярного транспорта веществ. Совокупность этих изменений ведет к нарушениям проницаемости капиллярной стенки, трансцеллюлярного транспорта веществ и диффузии газов, что структурно выражается в уменьшении количества микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме этих клеток.

В результате проведенного анализа особенностей ультраструктурной архитектоники клеток респираторного отдела легких пациентов с хронической ЛГ на фоне ХОЗЛ и хронической постэмболической легочной гипертензией был установлен ряд общих изменений субмикроскопической организации клеточных элементов аэрогематического барьера и альвеолоцитов II типа, свидетельствующих о развитии дегенеративных и деструктивных процессов. Прежде всего это находит свое выражение в изменениях органелл, поддерживающих энергетический баланс — митохондриях, которые набухают, в них уменьшается количество крист, а иногда наступает и лизис наружных мембран.

Возникающие вследствие этого нарушения биоэнергетического обеспечения метаболических внутриклеточных процессов и снижение активности окислительно-восстановительных реакций приводят к существенным угнетениям синтетических процессов в альвеолоцитах II типа, что на ультраструктурном уровне проявляется уменьшением доли мембран зернистой эндоплазматической сети, расширением ее цистерн и уменьшением количества свободных и связанных с мембранами рибосом.

При хронической ЛГ в просвете альвеол обнаруживается много деструктивно измененных десквамированных альвеолоцитов, с разрушенными осмиофильными пластинчатыми тельцами, что существенным образом влияет на процесс синтеза сурфактанта, который, являясь стабильным комплексом, довольно чувствителен к воздействию различных экзогенных и эндогенных факторов. Ультраструктурные нарушения органелл альвеолоцитов II типа свидетельствуют о резком нарушении его синтеза, накопления и секреции, что, в конечном итоге, приводит к развитию дыхательной недостаточности и формированию хронического легочного сердца.

Проведенные нами исследования позволяют рассматривать патогенез развития вторичной легочной гипертензии при ХОЗЛ и после ТЭЛА как результат целого комплекса нарушений не только со стороны сосудов малого круга кровообращения, но и со стороны респираторного отдела легких, приводящих к развитию легочно-сердечной недостаточности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гривли М.А. Патофизиология легких (пер. с англ.).— М.: Бином, 2000.— 315 с.
2. Есипова И.К. (под ред.) Легкое в патологии.— Новосибирск: Наука, 1975.— 193 с.
3. Задионченко В.С., Волкова Н.В., Свиридов А.А. и др. Системная пульмоногенная и вторичная легочная артериальная гипертензия // Рос. кардиол. журн.— 1997.— № 6.— С. 28—37.
4. Задионченко В.С., Погонченкова И.В., Гринева З.О. и др. Хроническое легочное сердце // Рос. кардиол. журн.— 2003.— № 4 (компьютерная версия).
5. Коноплева Л.Ф. Легочная гипертензия. Этиология, патогенез, клиника // Лікування та діагностика.— 2001.— 4.— С. 29—35.
6. Моисеев В.С. Хроническое легочное сердце // Врач.— 2001.— № 11.— С. 20—22.
7. Ольбинская Л.И., Игнатенко С.Б. Патогенез и современная фармакотерапия хронической сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность.— 2002.— № 2.— С. 87—92.
8. Савельев В.С. (под ред.) Флебология: руководство для врачей.— М.: Медицина, 2001.— 664 с.
9. Wagenvoort C.A. Lung biopsy specimens in the evaluation of pulmonary vascular disease // Chest.— 1980.— 77.— P. 614—625.

## УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛІТИН РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ЛЕГЕНЕВОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

О.Я. Бабак, О.О. Крахмалова, В.П. Невзоров

З метою вивчення ультраструктурних змін з боку респіраторних та секреторних альвеолоцитів, аерогематичного бар'єра та макрофагальної ланки альвеол у пацієнтів із хронічною легеневою гіпертензією, зумовленою ХОЗЛ та ТЕЛА, проведено електронно-мікроскопічне дослідження фрагментів тканини інтактних відділів легенів, отриманих під час оперативного втручання у 12 пацієнтів, госпіталізованих для хірургічного лікування легеневої патології.

Встановлено низку загальних змін з боку респіраторних альвеолоцитів, елементів аерогематичного бар'єра та секреторних альвеолоцитів, що свідчать про дегенеративні й деструктивні процеси у цих клітинах. Передусім це відображується у змінах мітохондрій — органелах, що підтримують енергетичний баланс клітини. Порушення внаслідок цього біоенергетичного забезпечення метаболізму клітин негативно впливають на внутрішньоклітинний синтез, накопичення та секрецію сурфактанта, що призводить до розвитку дихальної недостатності при ЛГ.

Дослідження дають підстави розглядати патогенез розвитку ЛГ як результат цілого комплексу порушень не тільки з боку судин малого кола кровообігу, а й з боку респіраторного відділу легенів, що призводить до розвитку дихальної недостатності й формування хронічного легеневого серця.

## ULTRASTRUCTURE OF THE LUNG RESPIRATORY DEPARTMENT CELLS IN PATIENTS WITH CHRONIC PULMONARY HYPERTENSION

O.Ya. Babak, E.O. Krahmalova, V.P. Nevzorov

With the aim of the study of ultrastructural changes of respiratory and secretory alveolocytes, the arohematic barrier and macrophageal link of alveoles in patients with chronic pulmonary hypertension (CPH) mediated by chronic obstructive lungs disease and pulmonary artery thromboembolism, tissue samples of intact pulmonary departments has been studied that were obtained during surgical intervention in 12 patients hospitalized for surgical treatment of pulmonary pathology.

A number of the general changes have been established on the part of respiratory alveolocytes, elements of arohematic barrier and secretory alveolocytes, testifying about the degenerative and destructive processes proceeding in these cells. First of all it is manifested in the changes of mitochondria — organelles supporting the power balance of a cell. Disturbances resulting from this bioenergetic cells metabolism affect the intracellular synthesis, accumulation and secretion of surfactant, that results in the progression of respiratory insufficiency at pulmonary hypertension.

The carried out investigations make the basis to consider pathogenesis of PH progression as a result of a whole complex of disturbances of not only on the part of lesser circulation vessels but also from the part of respiratory departments of lungs, that results in the development of respiratory insufficiency and formation of chronic cor pulmonale.