

О.А. Биковська, О.С. Яблонь, Г.І. Саврун, Т.Л. Прошок, Ю.О. Кислова
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця

БРОНХОЛЕГЕНЕВА ДИСПЛАЗІЯ У НЕДОНОШЕНИХ ДІТЕЙ

E-mail: bykowska.olga@gmail.com

В статті наведено результати патоморфологічного дослідження легеневої тканини у 19 глибоко недоношених дітей, які народилися з масою тіла менше 1500 грам, гестаційним віком менше 32 тижнів та мали чинники ризику розвитку бронхолегеневої дисплазії, із використанням гістологічного та імуногістохімічного методів. У всіх групах дослідження виявлені морфологічні судинні зміни, котрі можна характеризувати як ангіодисплазію, у вигляді наявності незрілих судин з вираженою мальформацією, потовщенням стінки та загальним порушенням архітекτονіки. Також виявлені імуногістохімічні зміни респіраторного, бронхоальвеолярного та найбільше судинного відділів легеневої тканини у вигляді накопичення віментину в стінці судин незрілих альвеол та бронхіол. Крім того, спостерігався низький рівень експресії нуклеарного антигену в ділянках дисплазії легеневої тканини та судинних мальформаціях. Отримані результати свідчать про зниження регенеративних можливостей легеневої тканини в пізньому неонатальному періоді, відсутність процесів регенерації легеневої тканини в постнеонатальному періоді та, відповідно, про порушення процесів альвеоляризації та ангіогенезу.

Ключові слова: недоношений новонароджений, бронхолегенева дисплазія, проліферативно-клітинний ядерний (нуклеарний) антиген, мезенхімальний фактор віментин.

Робота є фрагментом НДР «Оптимізація діагностики та лікування соматичної патології у дітей», № державної реєстрації: 0115U007075.

Відповідно до статистичних даних МОЗ України, частка передчасно народжених дітей серед всіх новонароджених становить близько 6 %, і цей показник є відносно сталим впродовж багатьох років [2]. У зв'язку з регіоналізацією перинатальної допомоги, удосконаленням методів виходжування та інтенсивної терапії, технік респіраторної підтримки, широким впровадженням замісного лікування препаратами сурфактанту щорічно зростає питома вага глибоко недоношених дітей в структурному розподілі новонароджених. Дана категорія дітей є одним з основних ресурсів формування неонатальної та малюкової захворюваності, інвалідності та втрат в постнеонатальному періоді [6,14].

Серед багатьох захворювань, до яких схильні найменші пацієнти відділень інтенсивної терапії новонароджених, бронхолегенева дисплазія (БЛД) залишається одним з найтяжчих та недостатньо вивчених [3,10]. Сьогодні БЛД розглядають як поліетіологічне хронічне захворювання, яке є наслідком порушеного відновлення пошкодженої легеневої тканини [5,15].

Сучасний варіант перебігу даної нозології характеризує «нова» форма бронхолегеневої дисплазії, яка морфологічно характеризується порушенням диференціювання паренхіми та затримкою формування альвеол, що призводить до спрощеної будови ацинусів [7]. Також для БЛД в сучасних умовах характерною є зупинка процесів ангіогенезу, яка характеризується затримкою формування мікросудин, зміненою капілярною конфігурацією та дисморфним принципом будови судин на фоні мінімальних фіброзних змін [4,8,13].

БЛД є серйозною проблемою для системи охорони здоров'я, оскільки це важлива причина неонатальної захворюваності і, на жаль, смертності. Діти з БЛД мають віддалені проблеми у вигляді епізодів обструкції, розвитку легеневої гіпертензії та легеневого серця, підвищену схильність до РСВ-інфекції, що обумовлює вищий ризик повторних госпіталізацій та збільшення коштів на лікування, вищий ризик затримки фізичного та неврологічного розвитку [1,9,12].

На жаль, до теперішнього часу невідомою залишається етапність патоморфологічних змін в легеневій тканині при формуванні «нової» форми бронхолегеневої дисплазії у глибоко недоношених дітей. Також невідомо яким чином відбувається подальший розвиток легеневої тканини у дітей, що перенесли БЛД легкого та помірного ступенів тяжкості, та які патоморфологічні особливості преваюють в легеневій тканині дітей, що вижили.

Метою роботи було вивчення патоморфологічних та імуногістохімічних особливостей легеневої тканини при формуванні «нової» форми бронхолегеневої дисплазії у надзвичайно недоношених дітей.

Матеріал та методи дослідження. Проведено аналіз 19 історій хвороби та протоколів патологоанатомічного дослідження глибоко недоношених дітей, які померли внаслідок різних перинатальних причин у відділенні анестезіології та інтенсивної терапії новонароджених Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні. Критеріями включення до дослідження були:

гестаційний вік новонародженого менше 32 тижнів, маса тіла при народженні менше 1500 грам, наявність чинників ризику виникнення БЛД, зокрема обтяжений материнський анамнез, тяжкі дихальні розлади після народження, потреба у штучній вентиляції легень. Критеріями виключення із дослідження були вроджені вади розвитку, в т.ч. дихальної системи, генетичні синдроми, пологова травма.

Забір матеріалу для гістологічних та імуногістохімічних досліджень проводили під час розтину дітей, що померли. Матеріал (шматочки легеневої тканини) фіксували впродовж 24 годин у нейтральному забуференому 10 % водному розчині формаліну. Після цього здійснювали зневоднення у етиловому спирті і заливку в парафін. Гістологічне дослідження легеневої тканини – матеріал обробляли в парафіновій заливці, зрізи фарбували гематоксилін-еозином та пікрофуксином за Ван-Гізона. Імуногістохімічне дослідження легеневої тканини: непрямий стрептовідин-пероксидазний метод виявлення експресії ядерного антигену проліферативної активності клітин (PCNA) та мезенхімального маркера віментину за допомогою моноклональних антитіл до даних антигенів (відповідно до інструкції фірми виробника DakoCytomation, Данія). Мікроскопічні дослідження здійснювали за допомогою світлооптичного мікроскопа Olympus BH-2 (Японія). Морфологічні та імуногістохімічні дослідження виконані у відділі морфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології АМН України», м. Київ. Розповсюдженість та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом від 0 до 3 балів: розповсюдженість (0 балів – немає забарвлення; 1 бал – менше 10 % позитивно забарвлених клітин; 2 бали – більше 10 % і менше 50 % позитивно забарвлених клітин; 3 бали – гомогенне забарвлення більше 50 % клітин); інтенсивності реакції (0 балів – немає видимого забарвлення; 1 бал – слабе забарвлення; 2 бали – помірне забарвлення; 3 бали – виразне забарвлення).

Статистична обробка результатів проводилась з використанням пакету програм Microsoft Excel, Windows XP. Для оцінки достовірності різниць середніх величин розраховувався критерій Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. В залежності від тривалості життя померлих дітей було розділено на 3 групи:

1 група – 5 глибоко недоношених дітей, що померли у ранньому неонатальному періоді (до 7 доби життя).

2 група – 10 глибоко недоношених дітей, що померли у пізньому неонатальному періоді (з 7 по 28 добу життя включно).

3 група – 4 дитини, що померли у віці від 30 днів до 4,5 місяців.

За масою тіла при народженні, терміном гестації групи дітей, включені у дослідження, достовірно не відрізнялися. Аналіз показав, що гестаційний вік померлих дітей коливався від 23 до 31 тижнів. Гестаційний вік дітей 1 групи в середньому становив $27,4 \pm 0,43$ тижнів, у дітей 2 групи – $25,7 \pm 0,51$ тижнів, гестаційний вік дітей 3 групи становив в середньому $26,7 \pm 0,41$ тижнів ($p > 0,05$). Маса тіла при народженні померлих дітей коливалася від 550 г до 1400 г, в середньому становила $1020,0 \pm 70,3$ грам. Слід зазначити, що з масою тіла менше 1000 г народилося 10 (52,6 %) новонароджених. Серед померлих дітей переважали хлопчики – 11 (57,9 %) дітей, дівчаток було 8 (42,1 %).

Основними патологічними станами у чотирьох дітей 1 групи клінічно були тяжка асфіксія та респіраторний дистрес-синдром з дихальною недостатністю (ДН) III ступеня. Ускладненнями у цих дітей були легенева кровотеча та спонтанний пневмоторакс. У однієї дитини основним клінічним діагнозом була генералізована герпетична внутрішньоутробна інфекція (з розвитком двобічної пневмонії, гепатиту, нефриту, кардиту), яка ускладнилася синдромом поліорганної недостатності та ДВЗ-синдромом. В усіх випадках патологоанатомічні діагнози співпадали з клінічними діагнозами. У дев'яти дітей 2 групи основним клінічним діагнозом була генералізована внутрішньоутробна інфекція неуточної етіології з ураженням органів дихання, нирок, мозку, печінки. Ускладненнями були ДН тяжкого ступеня, гостра ниркова недостатність, ДВЗ-синдром, серцево-судинна недостатність. У однієї дитини основним клінічним діагнозом була тяжка асфіксія, розвиток виразково-некротичного ентероколіту тяжкого ступеня з перфорацією порожнистого органу та розвитком перитоніту. В усіх випадках патологоанатомічні діагнози співпадали з клінічними, за виключенням дитини П., у якої основним патологоанатомічним діагнозом була бронхолегенева дисплазія. Причина розбіжності – об'єктивні труднощі діагностики у зв'язку з тяжким станом дитини.

В 3 групі дослідження у трьох дітей основним клінічним діагнозом була бронхолегенева дисплазія тяжкого ступеня, що ускладнилася ДН III ступеня, кардіоваскулярним синдром з

розвитком дилатаційної кардіоміопатії, легеневого серця, ідіопатичної артеріальної гіпертензії, недостатністю кровообігу тяжкого ступеня. У однієї дитини даної групи, яка померла у віці 30 діб, основним клінічним діагнозом була внутрішньоутробна інфекція неуточненої етіології з враженням ЦНС (перивентрикулярна лейкомаляція, кістозна форма), кишечника (НЕК III ст., перфорація, перитоніт). Супутнім діагнозом була бронхолегенева дисплазія тяжкого ступеня. В усіх випадках клінічні діагнози співпадали з патологоанатомічними діагнозами.

Гістологічне дослідження легеневої тканини у дітей 1 групи виявило зміни, характерні для бронхопневмоній з наявністю гострого запального ексудату у просвіті незрілих альвеол, макрофагальної реакції та десквамації епітелію. Слід зазначити, що міжальвеолярні перегородки були потовщені за рахунок повнокрів'я кровоносних капілярів та масивного набряку. У всіх новонароджених даної групи при гістологічному дослідженні були виявлені вогнища ателектазів, альвеоли мали нерівномірний просвіт та діаметр та містили пневмоцити з вогнищами без'ядерних ділянок, що є нефізіологічним для респіраторного відділу. Навколо альвеол були виявлені судини з порушенням архітектоніки та нерівномірним звуженням капілярів, лімфатичні судини були нерівномірно розширеними (рис. 1).

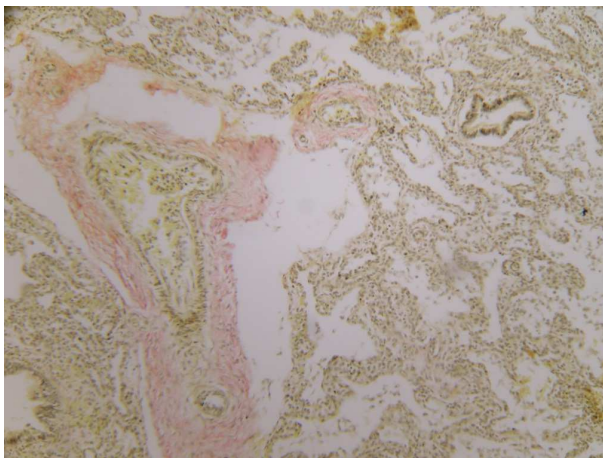


Рис.1. Легеня недоношеного новонародженого, 6 доба життя. Вогнища судин з порушенням архітектоніки, нерівномірним звуженням капілярів. Забарвлення пікрофуксином за Ван-Гізон. Мікрофотографія. Ок.х 10; Об.х 10.

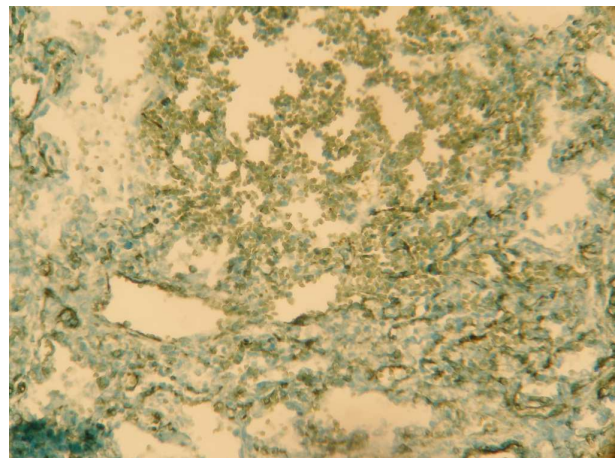


Рис. 2. Легенева тканина дитини 2 групи спостережень. Вогнище судинної мальформації на фоні незрілості респіраторного відділу. Виразна експресія віментину в стінці капілярів (імуногістохімічна реакція). Мікрофотографія. Ок.х 10; Об.х 10.

Імуногістохімічно в респіраторному відділі (частина бронхіол та незрілих альвеол) у новонароджених 1 групи виявлено виразну експресію мезенхімального маркера віментину. Така експресія віментину, на наш погляд, пов'язана не тільки з незрілістю легеневої тканини, але й з зупинкою альвеоляризації, оскільки мезенхімальні структури є характерними для ембріональних тканинних елементів сполучної тканини. Імуногістохімічна реакція на проліферативно-клітинний ядерний антиген була неоднорідною в даній групі спостережень: у вогнищах дисплазії та незрілості легеневої тканини вона була відсутньою у всіх випадках дослідження, натомість виразна експресія PCNA спостерігалася в ядрах клітин поза вогнищами дисплазії в міжальвеолярних перегородках, що свідчить про регенеративні можливості легеневої тканини у дітей даної групи.

Гістологічне дослідження легеневої тканини дітей 2 групи продемонструвало наявність крововиливів в респіраторному відділі бронхів, вогнищ ателектазів та ділянок емфізематозно розширених незрілих альвеол у 100 % випадків. Одночасно з вище перерахованими змінами спостерігалися вогнища судинних мальформацій та судинних ангіодисплазій (рис. 2).

При імуногістохімічному дослідженні мала місце виразна експресія мезенхімального маркера віментину у вогнищах судинних мальформацій (рис.2). Нами встановлено, що експресія проліферативно-клітинного ядерного антигену або була відсутньою, або мала місце лише в окремих групах ядер в клітинах міжальвеолярних перегородок.

У глибоконедоношених дітей 3 групи досліджень при гістологічному дослідженні легеневої тканини у всіх випадках спостережень були виявлені розповсюджені вогнища ателектазу респіраторних бронхіол, який в літературі має назву «муаровий ателектаз» (рис. 3). Відмічалася також перебудова частини респіраторних бронхіол по типу «розеткоподібних» (рис. 3). «Муаровий ателектаз» та наявність «розеткоподібних» респіраторних бронхіол є патогномічними

морфологічними ознаками тяжкої форми бронхолегеневої дисплазії. Одночасно в респіраторному відділі легень виявлені вогнища фіброзу з порушенням архітекτονіки даного відділу.

Крім того, у дітей 3 групи дослідження гістологічно були виявлені бронхіоли з гіперплазією та пролабуванням слизової оболонки, що призводило до потовщення стінки бронхіол та звуження або взагалі закриття їх просвіту (рис.4). Такі бронхіоли були оточені великою кількістю незрілих венозних судин, що експресували мезенхімальний фактор віментин, утворюючи неправильні структури з порушеною архітектонікою (рис.4). Імуногістохімічно в легеневій тканині дітей 3 групи в тканині респіраторних та термінальних бронхіол експресія ядерного компонента PCNA була взагалі відсутньою.

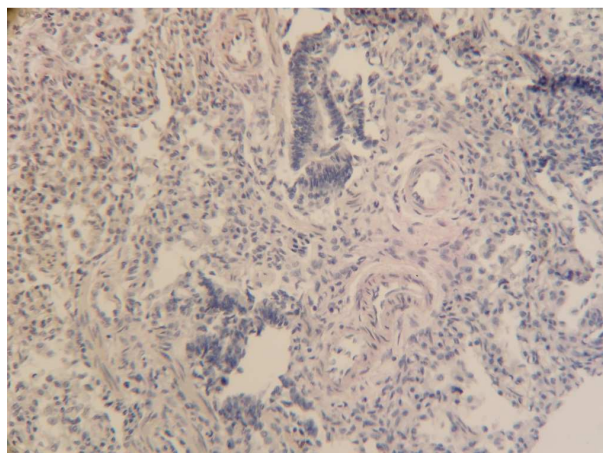


Рис. 3. Легенева тканина дитини 3 групи спостережень. Вогнище «муарового ателектазу». Перебудова респіраторних бронхіол по типу «розеткоподібних». Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія. Ок.х 10; Об.х 10.

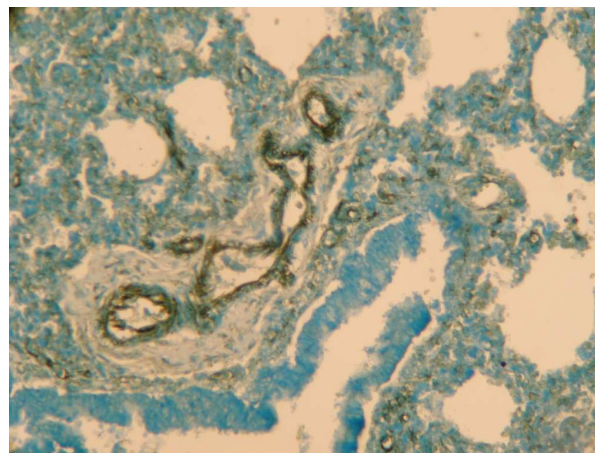


Рис. 4. Легенева тканина недоношеної дитини 3 групи досліджень. Бронхіоли з проліферацією епітелію та закритим просвітом. Судини з порушеною архітектонікою. Експресія віментину в судинних пучках (імуногістохімічна реакція). Мікрофотографія. Ок.х 10; Об.х 10.

Отже, проведені гістологічне та імуногістохімічне дослідження легеневої тканини у глибоко недоношених дітей, що мали чинники ризику розвитку БЛД, виявили пошкодження респіраторного, бронхоальвеолярного та судинного відділів. Слід зазначити, що судинні зміни виявлялися у судинах всіх типів – венозного, артеріального та лімфатичного. Виявлені судинні зміни, котрі можна назвати ангіодисплазією, характеризувалися наявністю примітивних, незрілих судин з вираженою мальформацією, потовщенням стінки та загальним порушенням їх архітектоніки. Встановлено, що вже на 1 тижні життя у глибоко недоношених новонароджених виникають судинні зміни, які характерні для розвитку «нової» форми бронхолегеневої дисплазії. Виразна експресія мезенхімального маркера віментину, яка мала місце, в основному, в стінці судин незрілих альвеол та бронхіол, свідчить не тільки про незрілість легеневої тканини, але й про зупинку процесів альвеоляризації та ангіогенезу. Найбільш виразні судинні зміни відмічалися у дітей 3 групи дослідження.

Значна розповсюдженість та інтенсивність експресії проліферативно-клітинного нуклеарного антигену в ядрах клітин респіраторного відділу, міжальвеолярних перегородок у дітей 1 групи свідчить, що потенціал регенерації в ранній неонатальний період залишається достатнім як для відновлення легеневої тканини, так і подальшого її фізіологічного розвитку. Натомість низький рівень експресії проліферативно-клітинного ядерного антигену в ділянках дисплазії легеневої тканини, судинних мальформаціях у дітей 2 та 3 груп дослідження свідчить про зниження регенеративних можливостей легеневої тканини в пізньому неонатальному періоді та відсутність процесів регенерації легеневої тканини в постнеонатальному періоді.

Висновок

При бронхолегеневій дисплазії відбувається пошкодження респіраторного, бронхоальвеолярного та найбільше судинного відділів легеневої тканини. Судинні зміни, характерні для «нової» бронхолегеневої дисплазії, виникають вже в ранньому неонатальному періоді, в подальшому відбувається їх прогресування з розвитком ангіодисплазії.

Імуногістохімічне дослідження з визначенням експресії віментину та проліферативно-клітинного нуклеарного антигену свідчить про зниження регенеративних можливостей паренхіми легень в пізньому неонатальному періоді, відсутність процесів регенерації легеневої тканини за межами неонатального періоду та, відповідно, про зупинку процесів ангіогенезу та альвеологенезу.

Перспективи подальших досліджень полягає у вивченні патоморфологічних змін легеневої тканини, що відбуваються в подальшому, у дітей з тяжкою бронхолегеневою дисплазією, які вижили.

Список літератури

1. Bykovska OA. Rol nutritivnoho statusu u formuvanni bronkholehenevoyi dysplaziyi u nedonoshennykh ditey. Perynatolohyya u pedyatryya. 2012; 3(51): 74-77. [in Ukrainian]
2. Znamenska TK, Vorobyova OV, Dubinina TYu. Orhanizatsiya ta perspektyvy rozvytku perynatalnoyi dopomohy v Ukraini. Neonatolohiya, khirurgiya ta perynatalna medytsyna. 2017; 7, 4(26): 5-11. [in Ukrainian]
3. Pavlinova YeB, Sakhipova GA. Bronkholegochnaya dysplaziya u nedonoshennykh detey: aktualnost problemy. Zdorovya Ukrayiny. 2017; 3(42): 60-61. [in Russian]
4. Alvira CM. Aberrant Pulmonary Vascular Growth and Remodeling in Bronchopulmonary Dysplasia. Available from: Front. Med. 3:21. DOI: 10.3389/fmed.2016.00021.
5. Balany J, Bhandari V. Understanding the impact of infection, inflammation, and Their Persistence in the Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia. Available from: Front. Med. 2:90. DOI: 10.3389/fmed.2015.00090.
6. Brown T. WHO Releases Guidelines for Reducing Maternal, Newborn Deaths Medscape [Internet]. 2015 Dec 8 [Cited 2018 Oct 15]. Available from: <http://www.Medscape.com/viewarticle/855582>.
7. Chao Cho-Ming, Moiseenko A, Zimmer K-P, Bellusci S. Alveologenesis: key cellular players and fibroblast growth factor 10 signaling. Available from: Molecular and Cellular Pediatrics (2016) 3:17DOI 10.1186/s40348-016-0045-7
8. Collins JP, Tibboel D, Ismé de Kleer M. The Future of Bronchopulmonary Dysplasia: emerging Pathophysiological Concepts and Potential New Avenues of Treatment. Available from: Front. Med. 4:61. DOI: 10.3389/fmed.2017.00061.
9. Davidson LM, Berkelhamer SK. Bronchopulmonary Dysplasia: Chronic Lung Disease of Infancy and Long-Term Pulmonary Outcomes. Available from: J. Clin. Med. 2017, 6(1), 4; <https://doi.org/10.3390/jcm6010004>.
10. Day CL, Ryan RM. Bronchopulmonary dysplasia: new becomes old again! / C. L. Day, // Ped. Research. – 2017. – Vol.81. – P. 210-213.
11. Hilgendorff A, O'Reilly MA. Bronchopulmonary dysplasia early changes leading to long-term consequences. Available from: Pulmonary Medicine DOI: 10.3389/fmed.2015.00002.
12. Hilgendorff A, Apitz C, Bonnet D, Hansmann G. Pulmonary hypertension associated with acute or chronic lung diseases in the preterm and term neonate and infant. The European Paediatric Pulmonary Vascular Disease Network, endorsed by ISHLT and DGPK. Heart. 2016; 102: 49-56.
13. Galambos C, Sims-Lucas S, Abman SH. Histologic Evidence of Intrapulmonary Anastomoses by Three-Dimensional Reconstruction in Severe Bronchopulmonary Dysplasia. AnnalsATS. 2013; 10 (5): 474-481.
14. Glass HC, Costarino AT, Stayer SA. Outcomes for Extremely Premature Infants. Anesth Analg. 2015; 120(6): 1337-1351.
15. McEvoy CT, Lucky J, Schmidt B. Bronchopulmonary Dysplasia: NHLBI Workshop on the Primary Prevention of Chronic Lung Diseases. Ann Am Thorac Soc. 2014; 11(3): 146-153.

Реферати

БРОНХОЛЕГОЧНАЯ ДИСПЛАЗИЯ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Быковская О.А., Яблонь О.С., Саврун Т.И.,
Процюк Т.Л., Кислова Ю.А.

В статье представлены результаты патоморфологического исследования легочной ткани у 19 недоношенных детей, которые родились с массой тела меньше 1500 г, гестационным возрастом меньше 32 недель и имели факторы риска возникновения бронхолегочной дисплазии, с использованием гистологического и иммуногистохимического методов. Во всех группах исследования обнаружены морфологические сосудистые изменения, которые имеют характер ангиодисплазии, и представлены наличием незрелых сосудов с выраженной мальформацией, утолщением стенки и общим нарушением архитектоники. Также обнаружены иммуногистохимические изменения респираторного, бронхоальвеолярного и наиболее сосудистого компонентов легочной ткани в виде накопления виментина в стенке сосудов незрелых альвеол та бронхиол. Кроме того, наблюдался низкий уровень экспрессии нуклеарного антигена в участках дисплазии легочной ткани и сосудистых мальформациях. Полученные результаты свидетельствуют о снижении регенераторных возможностей легочной ткани в позднем неонатальном периоде, отсутствии процессов регенерации легочной ткани в постнеонатальном периоде и, соответственно, о нарушениях процессов альвеоляризации и ангиогенеза.

Ключевые слова: недоношенный новорожденный, бронхолегочная дисплазия, пролиферативно-клеточный ядерный (нуклеарный) антиген, мезенхимальный фактор виментин.

Стаття надійшла: 13.05.18 р.

BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA IN PRETERM CHILDREN

Bykovska O.A., Yablon O.S., Savrun T.I.,
Procuik T.L., Kyslova Yu.O.

The article presents the results of pathomorphological research of pulmonary tissue in 19 deep premature newborns born with a birthweight less than 1500 grams, gestational age less than 32 weeks and the risk factors of forming of Bronchopulmonary Dysplasia has been conducted, using histological and immunohistochemical methods. In all study groups, morphological vascular changes can be characterized as angiodysplasia, in the form of the presence of immature vessels with severe malformation, thickening of the wall and general violations of architectonics, were revealed. Immunohistochemical changes of the respiratory, bronchoalveolar and vascular branches of the pulmonary tissue were also revealed as accumulation of Vimentine in the vessels wall of the immature alveoli and bronchioles. In addition, there was a low level of nuclear antigen expression in the areas of pulmonary dysplasia and vascular malformations. The obtained results indicate about decrease the regenerative capacity of the pulmonary tissue in the late neonatal period, the absence of regeneration processes of the pulmonary tissue in the postneonatal period and, accordingly, the interruption of the alveolarization and angiogenesis.

Key words: preterm newborn, Bronchopulmonary Dysplasia, proliferative cell nuclear antigen, mesenchimal factor Vimentin.

Рецензент: Похилько В.І.