

**Piotr Siermontowski, Jacek Jędrzejczyk,  
Agnieszka Pedrycz - Wieczorska, Robert Koktysz, Alicja Ciechan**

Piotr Siermontowski  
Zakład Medycyny Morskiej Wojskowy Instytut Medyczny  
ul. Grudzińskiego 4 81-103 Gdynia 3 skr. poczt. 18  
tel./fax. 58/6262405 tel./fax. MON 2624056 nurdok@tlen.pl

Jacek Jędrzejczyk  
Oddział chorób Wewnętrznych z Pododdziałem Kardiologii Szpitala MSWiA  
91-425 Łódź, ul. Północna 42  
j\_jedrzejczyk@go2.pl

Agnieszka Pedrycz - Wieczorska  
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii  
z Pracownią Cytologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.  
ul. Radziwiłłowska 11 20-080, Lublin  
apw4@wp.pl

Robert Koktysz  
Zakład Patomorfologii Wojskowy Instytut Medyczny  
ul. Szaserów 128 01-141 Warszawa 44  
tel. 22/6816645 tel. MON 816645 rkoktysz@poczta.onet.pl

Alicja Ciechan  
Wojewódzkie Pogotowie Ratunkowe  
Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej w Lublinie  
ul. Spadochroniarzy 8, 20-043 Lublin

**MORFOMETRYCZNE BADANIA ZWŁÓKNIENIA MIĘŚNIA  
SERCOWEGO PO LECZONYM I NIELECZONYM  
DOŚWIADCZALNYM URAZIE CIŚNIENIOWYM PŁUC**

*Warunkiem powstania urazu ciśnieniowego płuc jest zatrzymanie powietrza w płucach lub wtłaczanie go do dróg oddechowych pod zwiększonym ciśnieniem, czy też w objętości przekraczającej ich pojemność. Dochodzi do rozrywania miększu płucnego i przedostania się powietrza zarówno do jamy opłucnowej, i/lub do światła rozrywanych naczyń krwionośnych w przegrodach międzypęcherzykowych. Pozostawia to trwałe następstwa w miększu płucnym.*

*Celem podjętych badań było zbadanie wpływu przebytego jednokrotnego urazu ciśnieniowego płuc na mięsień sercowy, a konkretnie na nasilenie włóknienia i bliznowacenia, oraz stwierdzenie, czy zastosowanie leczenia hiperbarią ma znaczenie dla nasilenia zmian.*

*Do badań użyto serc 39-u królików. U zwierząt grupy doświadczalnej w komorze ciśnieniowej wykonywano uraz ciśnieniowy płuc. Połowę zwierząt tej grupy leczono następnie hiperbarią powietrzną. Grupę porównawczą stanowiły zwierzęta, których nie poddawano żadnym zabiegom, natomiast grupę kontrolną*

zabiegu zwierzęta, którym podczas symulowanego nurkowania nie wykonywano urazu ciśnieniowego. Wszystkie zwierzęta po doświadczeniu obserwowano przez cztery tygodnie a następnie uśmiercono. Podczas autopsji pobierano między innymi całe serca, które utrwalano. Skrawki tkankowe (po 3 przekroje różnych poziomów serca) sporządzono metodą parafinową i wybarwiono hematoksyliną – eozyną, oraz metodą van Giesona dla wyróżnienia włókien tkanki łącznej.

Morfometryczne badania ilościowe przeprowadzono z użyciem 121-o polowej siatki Hauga. Badano liczbę trafień skrzyżowań linii siatki we włókna mięśniowe, tkankę łączną i inne struktury. Wyniki pomiarów poddano analizie statystycznej z użyciem testu Manna – Whitney`a.

Wnioski:

1. Stwierdzono statystycznie znamiennej wzrost ilości tkanki włóknistej w sercu w grupach doświadczalnych.
2. Stwierdzono, że zastosowanie leczenia hiperbarycznego zmniejsza nasilenie zmian w sercu.

**Słowa kluczowe:** uraz ciśnieniowy płuc, serce, zwłóknienie, badania morfometryczne

## MORPHOMETRICAL EXAMINATION OF MYOCARDIAL FIBROSIS AFTER TREATED AND NON TREATED EXPERIMENTAL BAROTRAUMA OF LUNGS

*The condition of pulmonary barotrauma's genesis is: air arrest in lungs, impaction of air in high pressure into airways more than lungs capacity. The result is disruption of lungs parenchyma and penetration of air into pleural cavity and into lumen of vessels. It leaves persistent changes in parenchyma of lungs.*

*The aim of the study was an assessment of microscopic indices of changes produced by pulmonary barotrauma (PB) in the heart and examination of the effect of treatment with air hyperbarism on myocardium.*

*Material and methods:*

*The studies were carried out in 39 rabbits of either sex. PB was produced in a specially constructed high-pressure chamber for small animals, through creation of hyperpressure of about 200 kP which corresponded to submersion depth of about 20m. The rabbits were killed after three weeks of follow up (group D). In group L animals were treated with air hyperbarism (recompression and therapeutic decompression) directly after PB. Then a part of the animals (group L) were observed for three weeks too. After routine fixation four cross-sections of the whole heart were performed. In histological sections prepared by paraffin method in each cross-section of the whole heart microstereological examinations were performed. In these examinations the number of transsection points was counted with Haug grid lines (121-point grid) in each cross-section free walls and interventricular septum of the heart. In the comparison with the data from which medians were calculated, the Mann-Whitney test was used.*

*Conclusions*

1. *The statistically significant increase of amount connective tissue in the rabbit's heart from experimental group was observed.*
2. *The hyperbaric treatment decreases intensity of cardiac fibrosis.*

**Key words:** pulmonary barotrauma, heart, fibrosis, morphometric studies

## WSTĘP

Uraz ciśnieniowy płuc (*pulmonary barotrauma* - PB) jest to każde uszkodzenie mięszu płucnego powstałe wskutek nagłych zmian objętości czynnika oddechowego w nich zawartego. Morfologicznie jego wykładnikiem jest obraz ostrego rozdęcia płuc z rozrywaniem ścian pęcherzyków i przebiegających w nich naczyń. [5,12,14]

Bezpośrednimi (ostrymi) następstwami urazu ciśnieniowego płuc są tętnicze zatory powietrzne (*arterial gas embolism* - AGE) oraz odma opłucnowa, śródpiersiowa i podskórna. Odległymi następstwami są zmiany w mięszu płucnym pod postacią włóknienia, bliznowacenia i rozedmy (rozdęcia). [14]. Zatory powietrzne w przebiegu urazu ciśnieniowego płuc mogą wystąpić w każdej lokalizacji, jednak ze względu na ostry stan zagrożenia życia najistotniejszą i, niestety najczęściej opisywaną, jest lokalizacja w ośrodkowym układzie nerwowym. Podobnie niebezpieczne dla życia skutki wywołuje lokalizacja zatorów w krążeniu wieńcowym, jednak ze względów anatomicznych jest ona znacznie rzadsza. Jedną z możliwych przyczyn jest na ogół pionowe położenie ciała nurka podczas wynurzania się. Odchodzące pod prostym, a czasem rozwartym kątem od aorty tętnice wieńcowe nie sprzyjają trafianiu do nich biegnących zgodnie z prawem powszechnego ciśnienia ku górze pęcherzyków gazu, szczególnie pęcherzyków dużych.

Jedynym skutecznym sposobem leczenia zatorów gazowych, jest rekompresja i dekompresja lecznicza. Postępowanie takie zapewnia z jednej strony zmniejszenie średnicy pęcherzyków tworzących zator, co umożliwia ich przejście przez łoża naczyń włosowatych, a z drugiej strony, dzięki oddychaniu w atmosferze o zwiększonym ciśnieniu parcjalnym tlenu, poprawia utlenowanie niedokrwionych na skutek zatorów gazowych tkanek. [2]

W dostępnym piśmiennictwie prace dotyczące odległych zmian narządowych po przebyciu, często bezobjawowo, urazie ciśnieniowym płuc są niezwykle rzadkie. Natrafiono jedynie na nieliczne prace opisujące zmiany w konfiguracji serca. Były to prace bądź to katamnestyczne, bądź dotyczące zamkniętych populacji zawodowych. [8,10], lub też pletwonurków – amatorów [1,9]. Autorzy stwierdzali w nich przerost mięśnia sercowego, dotyczący zarówno lewej, jak i prawej komory.

Nie trafiono natomiast na prace doświadczalne, mówiące o zmianach morfologicznych w sercu, dla którego czynności przebudowa mięszu płucnego zapewne nie jest bez znaczenia. Zachęciło to nas do podjęcia szeregu badań z wykorzystaniem własnego modelu doświadczalnego. [13] Wyniki badań morfometrycznych makroskopowych przedstawiono w poprzednich publikacjach. [4,11]. Stwierdzono między innymi przerost mięśnia sercowego zwierząt doświadczalnych zarówno w zakresie prawej jak i lewej komory a także hamujący wpływ leczenia hiperbarycznego na stopień przerostu.

## CEL PRACY

Celem pracy było zbadanie zmian ilości tkanki łącznej włóknistej w mięszu sercowym zwierząt, które przebyły uraz ciśnieniowy płuc, oraz stwierdzenie, czy zastosowanie leczenia hiperbarycznego ma znaczenie dla nasilenia tych zmian.

## MATERIAŁ I METODA

Do badań użyto królików rasy *Srokacz Niemiecki* płci obojga, w wieku od 28 do 34 tygodni, o wadze 2240-5250 g. Własny model doświadczalny opracowany został właśnie dla królika ze względu na dane z piśmiennictwa wskazujące na częste wykorzystanie tego gatunku zwierząt do badań płuc w warunkach hiperbarii. [3,13].

Zwierzęta podzielono na trzy grupy: porównawczą P liczącą 10 zwierząt) i dwie doświadczalne D i DL, oraz grupę kontroli zabiegu liczącą 9 zwierząt.

Zwierzęta grup doświadczalnych w specjalnie skonstruowanej dla małych zwierząt komorze ciśnieniowej sprężano do ciśnienia 200 kP. Na szczycie wdechu uniedrozniano im drogi oddechowe i rozprężano do ciśnienia atmosferycznego, naśladując mechanizm powstawania urazu ciśnieniowego płuc, co jest metodą własną, opracowaną przez autorów pracy i wcześniej opisaną. Zwierzęta grupy DL leczono następnie hiperbarią powietrzną. Zastosowano zmodyfikowaną dla potrzeb tej pracy powietrzną tabelę leczniczą „III”, przeznaczoną do leczenia przypadków urazu ciśnieniowego płuc.

Grupę porównawczą stanowiły zwierzęta, których nie poddawano żadnym zabiegom. U zwierząt zaliczonych do grupy kontroli zabiegu, dokonano sprężania do ciśnienia 200 kP i następnie rozprężano bez uniedrażniania dróg oddechowych. Ponieważ wyniki pomiarów grupy porównawczej i kontroli zabiegu nie różniły się, w dalszym opracowaniu traktowano je jako jedną grupę.

Wszystkie zwierzęta po doświadczeniu były przez okres czterech tygodni obserwowane, a następnie uśmiercone. Spośród zwierząt poddanych doświadczeniu wybrano do dalszych badań te, u których przez cały okres obserwacji nie stwierdzono żadnych objawów patologicznych. Odrzucono łącznie 4 zwierzęta (spośród 24); jedno padło bezpośrednio po doświadczeniu (przyczyna – zator gazowy serca lewego), u dwóch wystąpiły objawy neurologiczne (częściowe porażenia kończyn), u jednego krwotok z dróg oddechowych. Obie grupy doświadczalne liczyły po 10 zwierząt.

Po uśmierceniu wykonywano sekcję zwłok, podczas której pobierano do badań pakiety narządów zawierające płuca i całe serca. Pakiety te utrwalano w 10% zobojętnionej i zbuforowanej formalinie.



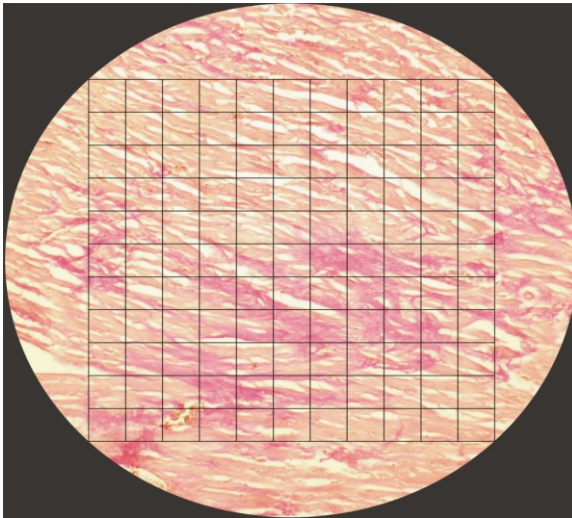
Rys. 1. Poziomy przekrojów badanych serc.

Każde serce po utrwaleniu krojono na 4 „plastry” równej grubości w płaszczyźnie prostopadłej do przegrody międzykomorowej (rys.1). Z każdego z przekrojów wykonywano preparat mikroskopowy metodą parafinową, barwiąc następnie hematoksyliną – eozyną. Następnie wykonywano preparaty barwione metodą van Giesona, celem uwidocznienia włókien kolagenowych.

Po przeprowadzeniu oceny jakościowej, wykonano badania ilościowe. W losowo wybranych polach widzenia preparatów barwionych metodą van Giesona, przy użyciu 121-o polowej siatki Hauga badano liczbę trafień skrzyżowań siatki w następujące struktury:

- włókna mięśniowe (M)

- włókna łącznotkankowe (TL)
- inne (I)



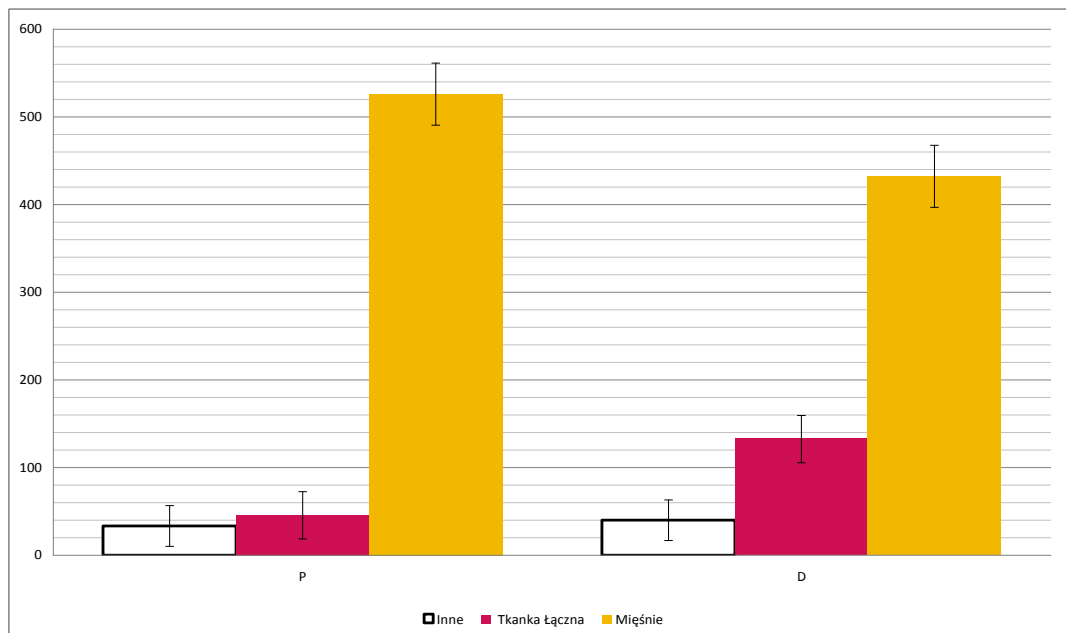
Badania mikrostereologiczne [15] wykonano przy użyciu mikroskopu świetlnego "Biolar" z podświetlaczem halogenowym, z zamontowaną nasadką projekcyjną typu MNP1S. Zliczeń dokonywano przy powiększeniu 40 x. Zliczenia wykonywano dobierając losowo 5 pól widzenia z każdego poziomego przekroju. Sposób zliczania przedstawia rys. 2. Uzyskane wyniki poszczególnych zliczeń zebrano w tabelach i poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem testu U Manna – Whitneya. Określono też poziom istotności statystycznej różnic

Rys. 2. Przekrój mięśnia w barwieniu van Giesona z nałożoną siatką Hauga. Pow. 200 x

pomiędzy grupami używając testu zmienności Benferoniego.

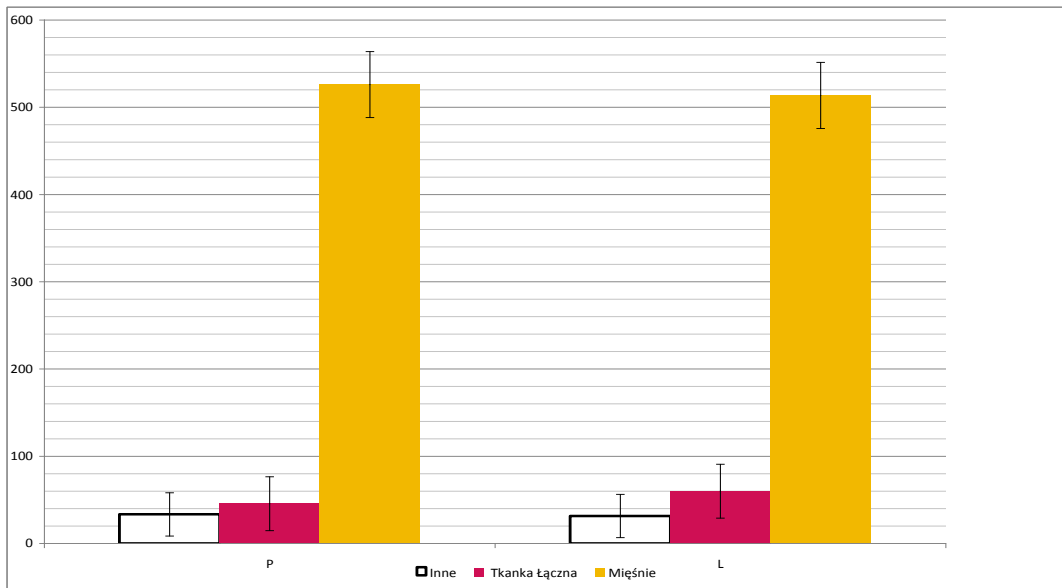
## WYNIKI

W porównaniu z grupą P w grupie D stwierdzono statystycznie znamiennej wzrost średniej liczby trafień we włókna tkanki łącznej i spadek ilości trafień w tkankę mięśniową, przy nieznacznych zmianach liczby trafień w inne struktury (rys. 3).



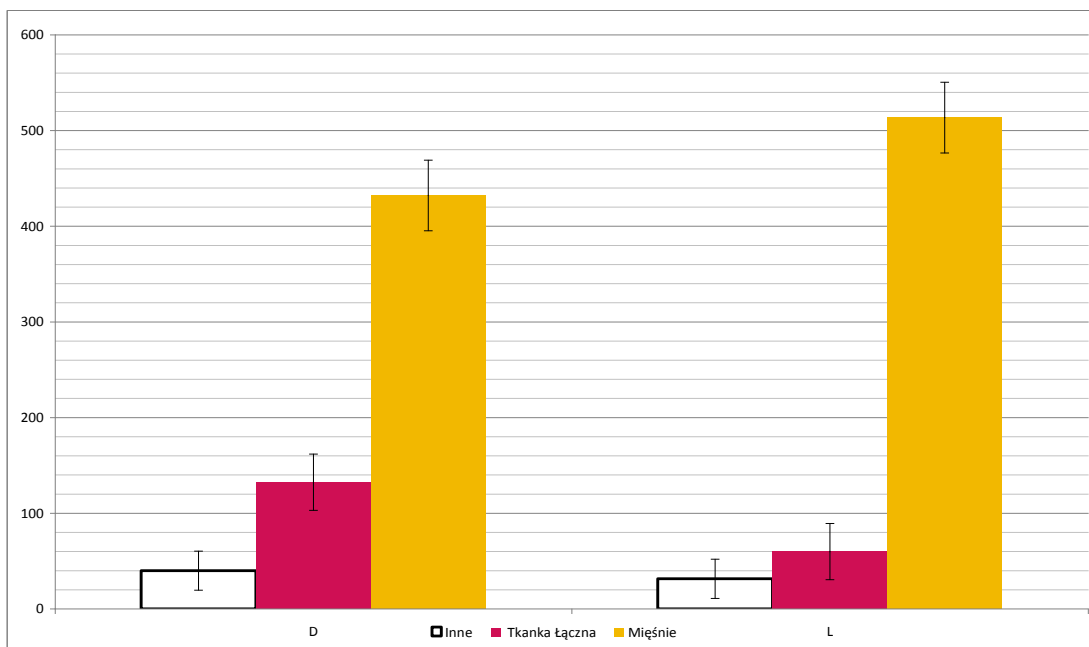
Rys. 3. Porównanie grup porównawczej (P) i doświadczalnej (D)

Porównując wyniki pomiędzy grupami P i L stwierdzono jedynie znamienne statystycznie wzrost liczby trafień w struktury łącznotkankowe, przy nieznamiennej różnicy średniej liczby trafień we włókna mięśniowe i inne struktury (rys. 4).



Rys. 4. Porównanie grup porównawczej (P) i leczonej (L)

Porównanie pomiędzy grupami D i L wykazało istotne statystycznie: wzrost liczby trafień w struktury łącznotkankowe i spadek liczby trafień we włókna mięśniowe. Różnica liczby trafień w inne struktury pozostała nieznamienne statystycznie (rys. 5.)



Rys. 5. Porównanie grup doświadczalnej (D) i leczonej (L)

## **OMÓWIENIE WYNIKÓW**

Uzyskane wyniki wskazują, że przebycie jednorazowego urazu ciśnieniowego płuc jest przyczyną przesunięcia stosunku tkanki mięśniowej do włóknistej w sercu na korzyść tej ostatniej. Włóknienie mięśnia sercowego zachodzi równomiernie w całej jego objętości, niezależnie od poziomu przekroju.

Za przyczynę tego zjawiska uznać należy bliznowacenie po mikromartwicach (mikrozawałach) mięśnia sercowego, wywołanych mikrozatorami powietrznymi. Za taką właśnie a nie inną przyczyną zwiększenia ilości tkanki łącznej kosztem tkanki mięśniowej przemawia znacznie mniejsze nasilenie zmian w grupie doświadczalnej, w której zwierzęta po doznanym urazie były leczone rekompresją – dekompresją leczniczą. Stosunek tkanki mięśniowej do włóknistej jest w grupie zwierząt leczonych zbliżony do grupy kontrolnej.

Potwierdza to i uzupełnia uzyskane wcześniej [4,11] wyniki dotyczące przerostu mięśnia sercowego. Poza opisanymi wcześniej przyczynami związanymi z przebudową mięszu płucnego i wzrostem naczyniowego oporu płucnego można przyjąć, że rozsiane bliznowacenie mięśnia sercowego również jest istotnym powodem kompensacyjnego przerostu.

Podobne zmiany do uzyskanych przez nas w warunkach doświadczalnych obserwowali autorzy [1,6,8,9,10] u nurków, którzy wielokrotnie narażeni byli na często bezobjawowy, uraz ciśnieniowy płuc.

Udało się także doświadczalnie potwierdzić, że wdrożenie leczenia rekompresją – dekompresją wpływało na znacznie mniejsze nasilenie zmian w mięśniu sercowym. Jest to doświadczalne potwierdzenie celowości prowadzenia profilaktycznego leczenia hiperbarycznego w przypadkach nurkowań, których przebieg mógł być przyczyną urazu ciśnieniowego płuc. Jest to o tyle istotne, że większość przypadków urazu ciśnieniowego płuc (ok. 70%) ma subkliniczny, bezobjawowy przebieg [7], podobnie jak miało to miejsce u wykorzystanych do badań zwierząt.

## **WNIOSKI**

1. Przebycie urazu ciśnieniowego płuc może być przyczyną rozsianego włóknienia mięśnia sercowego.
2. Zastosowanie leczenia rekompresją – dekompresją leczniczą w sposób istotny zmniejsza nasilenie zmian w sercu.

## **PIŚMIENNICTWO**

1. Boussuges A, Lafay V.: Changes in cardiac function during recreational diving. Arch Mal Coeur Vaiss. 1997 Feb;90(2):263-8.
2. Doboszyński T., Orłowski T.: Podstawy terapii hiperbarycznej. Wyd. WAM Gdynia 1977
3. Dobuler KJ, Catravas JD, Gillis CN.: Early detection of oxygen-induced lung injury in conscious rabbits. Am Rev Respir Dis. 1982 Sep;126(3):534-9. – królik jako metoda
4. Jędrzejczyk J., Siermontowski P., Bernas S., Kozłowski W., Olszański R., Koktyś R.: Dalsze badania morfometryczne serca w leczonym i nieleczonym doświadczalnym urazie ciśnieniowym płuc. PHR 2010 3 (32) 57-66
5. Kozłowski W., Siermontowski P., Koktyś R., Olszański R.: Bronchoalveolar tree and the pulmonary vascular bed in pulmonary barotrauma. An

- experimental study. Polish Journal of Environmental Studies 2006, 15, 4b: 100-104
6. Lafay V.: The heart and underwater diving. Arch Mal Coeur Vaiss. 2006 Nov;99(11):1115-9
  7. Leith D., Green R.: Pulmonary barotrauma in divers and the treatment of cerebral arterial gas embolism. Aviat Space Environ Med. 1986 Oct;57(10 Pt 1):931-8
  8. Mukerji B, Alpert MA, Mukerji V.: Right ventricular alterations in scuba divers: findings on electrocardiography and echocardiography. South Med J. 2000 Jul;93(7):673-6
  9. Muth CM, Tetzlaff K.: Scuba diving and the heart. Cardiac aspects of sport scuba diving Herz. 2004 Jun;29(4):406-13
  10. Ross JA, Macdiarmid JI, Osman LM, Watt SJ, Godden DJ, Lawson A.: Health status of professional divers and offshore oil industry workers. Occup Med (Lond). 2007 Jun;57(4):254-61. Epub 2007 Feb 22.
  11. Siermontowski P., Bernas S., W., Olszański R., Koktysz R., Kaczerska D.: Wstępne badania morfometryczne serca w leczonym i nieleczonym doświadczalnym urazie ciśnieniowym płuc. PHR 2010 2 (31) 45-54.
  12. Siermontowski P., Kozłowski W., Koktysz R., Kulig A., Olszański R., Konarski M.: Macroscopic and microscopic indices of changes in experimental pulmonary barotrauma. w Mekjavić B., Tipton M., Eiken O.: "Diving & Hyperbaric Medicine." EUBS 1997 Proc. Bled, Slovenia. 107 – 111
  13. Siermontowski P., Kozłowski W., Kulig A., Gałach R., Wojcieszek P., Niedziałkowski P.: Model doświadczalny urazu ciśnieniowego płuc. Lek. Wojsk., 1996, 72, 5-6 (III): 293 – 298
  14. Topliff E.D.: Mechanism of lung damage in explosive decompression. Aviat Space Environ Med. 1976 May;47(5):517-22.
  15. Weibel E.R.: Stereological Methods. vol. 1 & 2 Academic Press. London 1979 – 1980

Autorzy:

**kmdr por. dr med. Piotr Siermontowski**

Pracownik Zakładu Medycyny Morskiej Wojskowego Instytutu Medycznego. Absolwent Wydziału Lekarskiego Wojskowej Akademii Medycznej. Specjalista medycyny morskiej i tropikalnej, medycyny transportu, patomorfolog. Urzędujący od 2007 Prezes Zarządu Polskiego Towarzystwa Medycyny i Techniki Hiperbarycznej. Członek Undersea & Hyperbaric Medical Society [UHMS] i European Underwater and Baromedical Society [EUBS]. Współautor 4 podręczników oraz kilkudziesięciu publikacji naukowych.

**lek. med. Jacek Jędrzejczyk**

Pracownik Oddziału Chorób Wewnętrznych z Pododdziałem Kardiologii Szpitala MSWiA w Łodzi. Absolwent Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Specjalizujący się w dziedzinie chorób wewnętrznych. Autor kilku publikacji naukowych.

**dr hab. med. Agnieszka Pedrycz - Wieczorska**

Absolwentka Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Samodzielny pracownik naukowo-dydaktyczny w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii z Pracownią Cytologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Stypendystka Rządu Flandrii i Polskiego Ministerstwa Edukacji Narodowej. Stypendystka Royal Cornwall Hospital Truro, (Wielka Brytania). Współpracuje z Department of Pathology Ghent University, (Belgia), Katedrą Anatomii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Członek Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz Polskiego Towarzystwa Medycyny i Techniki



Hiperbarycznej. Autor i współautor ponad 100 publikacji o tematyce cytologicznej – śmierć komórki, biomarkery stresu komórkowego, onkologicznej i ginekologicznej.

**ppłk. rez. dr med. Robert Koktysz**

Pracownik Zakładu Patomorfologii Wojskowego Instytutu Medycznego. Absolwent Wydziału Lekarskiego Wojskowej Akademii Medycznej. Specjalista patomorfolog. Medyk sądowy. Autor kilkudziesięciu publikacji naukowych.

**lek. med. Alicja Ciechan**

Absolwentka Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, specjalista anestezjologii i intensywnej terapii, medycyny ratunkowej, zdrowia publicznego, ukończyła studia podyplomowe w zakresie ekonomiki zdrowia na Uniwersytecie Warszawskim. W latach 1986 – 1990 praca w szpitalu uniwersyteckim w Missuracie (Libia) w oddziale intensywnej terapii. Od 2002 r. zastępca Dyrektora ds. Lecznictwa Wojewódzkiego Pogotowia Ratunkowego w Lublinie.

