

## QUANTITATIVE EXAMINATION CORELLATION OF MICROSCOPIC EXPONENTS OF EXPERIMENTAL ANIMALS LUNG DISTENSION WITH WEIGHT AFTER HYPERBARIC EXPOSURE SINGLE SIGN

### BADANIA ILOŚCIOWE KORELACJI MIKROSKOPOWYCH WYKŁADNIKÓW ROZDĘCIA PŁUC ZWIERZĄT DOŚWIADCZALNYCH Z ICH WAGĄ PO JEDNOKROTNEJ EKSPOZYCJI HIPERBARYCZNEJ

Piotr Siermontowski <sup>1)</sup>, Wojciech Kozłowski <sup>2)</sup>, Agnieszka Pedrycz <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Maritime and Hyperbaric Medicine Department, Military Institute of Medicine in Gdynia, Poland

<sup>1)</sup> Zakład Medycyny Morskiej i Hiperbarycznej Wojskowego Instytutu Medycznego w Gdyni

<sup>2)</sup> Pathology Department, Military Institute of Medicine in Warsaw, Poland

<sup>2)</sup> Zakład Patomorfologii Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie

<sup>3)</sup> Histology and Embryology Department with the Experimental Cytology Laboratory of Medical University in Lublin, Poland

<sup>3)</sup> Katedra i Zakład Histologii i Embriologii z Pracownią Cytologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

#### ARTICLE INFO

**Journal:** PolHypRes 2013 Vol. 44 Issue 3 pp. 7 – 22

**ISSN:** 1734-7009

**eISSN:** 2084-0535

**DOI:** [HTTP://DX.DOI.ORG/10.13006/PHR.44.1](http://dx.doi.org/10.13006/PHR.44.1)

Pages: 16, figures: 2, tables: 4.

**page www of the periodical:** [www.phr.net.pl](http://www.phr.net.pl)

#### Keywords/Słowa kluczowe:

*(in English):* pulmonary barotrauma, lung volume, connective fibers damage.

*(in Polish):* uraz ciśnieniowy płuc, objętość płuc, uszkodzenie włókien łącznotkankowych.

#### Polish-English bilingual publication

#### Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

#### ABSTRACT

*(in English)*

Examinations conducted on the lungs of divers who had suffered a pulmonary barotrauma, as well as experimental research into the condition, including the authors' own studies, both macro- and microscopic, indicated an increased lung parenchyma aeration. Distension was dominant within the obtained image.

The objective of the research consisted in the evaluation of lung capacity changes following pulmonary barotrauma using a proven auteur experimental model. The capacity of isolated and fixed lungs was measured with the displacement method.

An increase in post-traumatic lung capacity in relation to the control group was expected. However, the lung capacity among experimental groups was lower as compared with the control group. Also the relation between lung capacity and animal weight decreased.

It was determined that the reasons for such results may be sought in the connective fibre damage found in alveolar walls, and thus an increased mechanical susceptibility of the lung and its capacity reduction under the influence of hydrostatic pressure.

*(in Polish)*

Badania płuc nurków, którzy przeżyli uraz ciśnieniowy płuc, oraz badania doświadczalne, w tym badania własne, zarówno makroskopowe, jak i mikroskopowe wykazywały zwiększenie upowietrzenia mięszu płucnego. W obrazie dominowało rozdęcie.

Celem pracy było zbadanie, z użyciem sprawdzonego, autorskiego modelu doświadczalnego, zmian objętości płuc po przebyciu urazu ciśnieniowego. Objętość izolowanych, utrwalonych płuc mierzono metodą wypornościową.

Spodziewano się wzrostu objętości płuc po urazie w stosunku do grupy kontrolnej. Zmierzona objętość płuc grup doświadczalnych była jednak mniejsza w stosunku do grupy kontrolnej. Zmniejszał się również stosunek objętości płuc do wagi zwierzęcia.

Uznano, iż przyczyną takich wyników może być uszkodzenie przez uraz ciśnieniowy włókien łącznotkankowych w ścianach pęcherzyków, a co za tym idzie większa podatność mechaniczna płuca i zmniejszanie jego objętości pod wpływem ciśnienia hydrostatycznego.

The summary in Russian on end of the publication

## WSTĘP

Jednym z wykładników morfologicznych urazu ciśnieniowego płuc (UCP) jest ich rozdęcie. Gwałtowne zwiększanie objętości czynnika oddechowego w pęcherzyku płucnym prowadzić może do rozerwania jego ścian i powstania większej przestrzeni powietrznej – pęcherza rozdęciowego. Jednak nie wszystkie pęcherzyki ulegają rozerwaniu. W części z nich dochodzi jedynie do naciągnięcia ścian. Wiąże się to z jednej strony ze zwiększeniem objętości pęcherzyka, a z drugiej, należy przypuszczać że z „naciągnięciem” i zmniejszeniem grubości przegrody międzypęcherzykowej.

Lim i wsp. u czterech z pięciu nurków, którzy przebyli UCP stwierdzili rozedmę śródmiąższową, zwaną niekiedy "chirurgiczną" (ang. surgical emphysema) [1].

Badania innych autorów wykazały, że w UCP powstałym zarówno wskutek wypadków nurkowych, jak i w UCP doświadczalnie wykonanym w płucach np. podczas autopsji, stałymi wykładnikami morfologicznymi były: połączenie blaszek opłucnej oraz pęcherze rozdęciowe płuc. Przy tym należy podkreślić, że uszkodzenia płuc nie zawsze lokalizowały się wokół blizn i zwłóknień miąższu płucnego [2, 3, 4, 5].

Colebath i wsp. także badali ludzi, którzy przebyli UCP. Wykazali u nich m.in. zmniejszenie pojemności oddechowej (air space) [6].

W badaniach patomechanizmu UCP powstającego przy sztucznym oddychaniu z wysokim nadciśnieniem oddechowym, stosowanym z różnych powodów, stwierdzili, że proces ten ułatwia m. in. niedojrzałość histologiczna płuc [7].

W UCP wskutek nadmiernego poszerzenia przestrzeni powietrznych miąższu płucnego dochodzi do naciągnięcia ściany pęcherzykowo-naczyniowej [8] (ang. shear stress) w wyniku czego następuje otwarcie połączeń międzypęcherzykowych (ang. pulmonary pores) [9]. W efekcie końcowym następuje rozerwanie ścian pęcherzyków płucnych i końcowych oskrzelików z przerwaniem ciągłości m.in. ich mięśni gładkich [10].

W szerszym opracowaniu Rouby i wsp. u 86% chorych z UCP stwierdzili poszerzenie przestrzeni powietrznych, głównie pod postacią rozdęcia drzewa oskrzelowego i pęcherzykowego, pseudotorbieli powietrznych i podopłucnowych i/lub śródprzegrodowych [11]. Autorzy ci podkreślili, że te zmiany w płucach są swoiste dla UCP

We własnych badaniach wykładników morfologicznych UCP autorzy niniejszej pracy otrzymali podobne, jak u innych autorów wyniki [12].

Ponieważ opisy mikroskopowe i makroskopowe płuc badanych po urazie ciśnieniowym płuc mówią o cechach rozdęcia i rozedmy o różnej lokalizacji, a więc o zwiększeniu upowietrznienia miąższu płucnego, a badania spirometryczne osób które przebyły uraz wykazują zmniejszenie pojemności życiowej i innych pojemności i objętości płuc, zachęciło to nas do podjęcia badań doświadczalnych.

## CEL PRACY

Celem pracy było wykorzystanie autorskiego, zwalidowanego w licznych innych badaniach modelu doświadczalnego urazu ciśnieniowego płuc do określenia zmian objętości płuc po przebytych urazach ciśnieniowych.

Na podstawie doniesień w piśmiennictwie i wyników badań własnych oczekiwano, iż płuca zwierząt doświadczalnych podanych UCP będą miały objętość większą, niż płuca w grupach kontrolnych.

## MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano autorski model doświadczalny urazu ciśnieniowego płuc [13]. Badaniu poddano 63 króliki podzielone na grupy porównawczą [P] i doświadczalną [D]. W grupie porównawczej wyodrębniono dwie podgrupy. Pierwszą podgrupę [P] stanowiło 9 zwierząt, u których nie wykonywano żadnych zabiegów.

## INTRODUCTION

Lung distension is one of the morphological exponents of pulmonary barotrauma (PB). A rapid increase of the breathing mix volume in a pulmonary alveolus may cause its walls to rupture, thus providing more space for the air and the occurrence of emphysema. However, not all alveoli become ruptured. For some of them, the process is limited to straining of the walls. This, on the one hand, is connected with a certain increase in the alveolar volume; yet, on the other, it presumably leads to an excess strain and a reduction in thickness of interalveolar septum.

According to the results of a study conducted by Lim and others, four out of five divers with PB manifested interstitial emphysema, also known as surgical emphysema [1].

Other authors' test results showed that both in the PB resulting from diving accidents as well as in the ones invoked as an experiment during autopsy, typical morphological exponents included: connection of the pleurae as well as the appearance of distension alveoli. It needs to be noted that lung damage was not always localized around the areas of fibrosis and scarring of pulmonary parenchyma [2,3,4,5].

Colebath and others also carried out research on humans following PB. Their findings included the detection of a reduced air space [6].

In their studies on the PB patho-mechanism occurring during artificial respiration with high respiratory overpressure, applied for various reasons, they noted that the process is facilitated by histological immaturity of the lungs [7].

Due to excessive expansion of the air spaces of pulmonary parenchyma as a result of PB, the alveolar-vascular wall becomes overstrained, the so-called shear stress [8], and as a consequence interalveolar connections become opened (pulmonary pores) [9]. In the end, the walls of pulmonary alveoli and lobular bronchioli rupture, with related interruption of smooth muscle tissue, etc. [10].

In a more detailed study, Rouby and others observed expanded air spaces in 86% of PB patients, mainly in the form of a bronchial and alveolar tree distension, air, subpleural and/or interseptal pseudocysts [11]. The authors emphasized that the above lesions in the lungs are PB characteristic.

In their own studies on morphological exponents of PB, the authors obtained similar results to other researchers [12].

Since the micro- and macroscopic lung descriptions, related to patients following pulmonary barotrauma, indicate traits of distension and emphysema of different locations, and thus an increased aeration of pulmonary parenchyma, whereas spirometry tests on people who suffered the trauma denote reduced pulmonary capacity as well as a reduction in the lung volume, our team was encouraged to undertake an experimental research devoted to this particular area of expertise.

## OBJECTIVE

The objective of the study was to evaluate changes in lung capacity following pulmonary barotrauma with the use of an auteur pulmonary barotrauma model validated in the course of numerous studies.

On the basis of available literature, as well as the results of the authors' own studies, the lungs of experimental animals subjected to PB were expected to be characterised by a larger volume as compared with the animals from the control group.

## MATERIAL AND METHODS

The research was based on an auteur experimental pulmonary barotrauma model [13].

Druga podgrupa; kontroli zabiegu [PZ] składała się z 6 zwierząt, u których wykonano wszystkie czynności zabiegowe jak w grupie D, z wyjątkiem UCP.

Króliki grupy D były natomiast poddane urazowi ciśnieniowemu płuc. Podzielono na cztery podgrupy w zależności od czasu obserwacji i stosowania bądź nie leczenia hiperbarycznego: podgrupa [D] - 16 zwierząt - przeprowadzano uraz ciśnieniowy i natychmiast po tym króliki uśmiercano. W podgrupie [DO] - 12 zwierząt - po doznanym urazie prowadzono obserwację przez okres 3 tygodni. Króliki podgrupy [DL] - 10 zwierząt - po doznanym urazie leczono hiperbarią powietrzną przez okres 169 minut, po czym uśmiercano. Króliki podgrupy [DLO] - 10 zwierząt - bezpośrednio po urazie leczono hiperbarią powietrzną jak w grupie DL, a następnie obserwowano przez okres 3 tygodni i później uśmiercano.

Zwierzęta grup (DL) i (DLO) leczono hiperbarią powietrzną; rekompresją i dekompresją leczniczą. Zastosowano zmodyfikowaną zgodnie z założeniami innych autorów [10] dla potrzeb tej pracy powietrzną tabelę leczniczą (tab. III) [14].

Atmosfera w komorze ciśnieniowej nie miała wpływu na zmiany w płucach, ponieważ wentylację prowadzono zgodnie z zasadami i teorią prowadzenia wentylacji dla obiektów hiperbarycznych podczas ekspozycji powietrznych [15].

Zwierzęta wszystkich grup uśmiercano przez podanie do żyły brzeżnej ucha dawki przekraczającej 50 mg na kilogram masy ciała siarczanu magnezu, w postaci nasyconego roztworu w 0,9% NaCl. Powodowało to śmierć zwierzęcia w czasie od 20 sekund do 1 minuty od podania.

Po uśmierceniu zwierzęta ważono i wykonywano badanie pośmiertne. Po rozcięciu powłok szyi, wypreparowywano i podwiązywano w dwóch miejscach tchawicę, celem niedopuszczenia do zapadnięcia się płuc po otwarciu klatki piersiowej. Przed otwarciem klatki piersiowej wykonywano obustronnie próbę wodną na obecność odmy opłucnowej. Następnie wydobywano w całości pakiet narządów klatki piersiowej i wypreparowywano z niego serce oraz grasicę wraz z tkankami śródpiersia. Do dalszego histopatologicznego pozostawiano pakiet narządowy, składający się z tchawicy, oskrzeli i płuc. Pakiety te utrwalano przez okres 14-u dni w 10% zobojętnionej formalinie. Podczas utrwalania pakiety pływały swobodnie po powierzchni utrwalacza zanurzone w ok. 40% swej objętości.

Po utrwaleniu pakiet narządowy wydobywano z utrwalacza i odcinano płuca od tchawicy i oskrzeli głównych. Cięcie przeprowadzano jak najbliżej wnęki płucnej. Płuca pojedynczo zanurzano w cylindrze miarowym, wypełnionym wodą i mierzono ich objętość, określając wzrost poziomu wody po całkowitym zanurzeniu płuca. W przypadku stwierdzenia podczas badania pośmiertnego odmy opłucnowej, bądź innych zaburzeń prawidłowego opowietrzenia badanego płuca, wynik pomiaru był odrzucany.

## WYNIKI

Uzyskane wyniki zebrano i poddano analizie statystycznej. Średnie wyników uzyskanych w poszczególnych grupach przedstawia tabela 1.

It involved 63 rabbits divided into a comparative [P] and experimental [D] group. The comparative group was additionally divided into two subgroups. The first subgroup consisted of 9 animals which were not subjected to any treatment. The other subgroup, treatment control subgroup [PZ], consisted of 6 animals which were subjected to the same treatment activities as group [D], with the exception of pulmonary barotrauma.

The rabbits from group [D], on the other hand, were subjected to PB. They were divided into four subgroups determined by the duration of observation time and whether or not hyperbaric treatment was applied: subgroup [D] - 16 animals - pulmonary barotrauma was performed; animals were put to death immediately afterwards. Subgroup [DO] - 12 animals - pulmonary barotrauma was induced and followed by a 3-week long observation. Subgroup [DL] - 10 animals - pulmonary barotrauma was induced and treated with hyperbaric air for the period of 169 minutes; animals were put to death immediately after treatment completion. Subgroup [DLO] - 10 animals - similarly to subgroup [DL] the animals were treated with hyperbaric air immediately after the trauma, which was followed by a 3-week long observation. The animals were put to death afterwards.

The animals from subgroups [DL] and [DLO] were treated with hyperbaric air, medicinal recompression and decompression. For research purposes a modified air treatment table (tab III) [14] was applied in accordance with the assumptions made by other authors [10].

Hyperbaric chamber atmosphere had no impact on lesions occurring in the lungs, as ventilation was carried out in accordance with ventilation principles and theory with regard to hyperbaric facilities during air exposures [15]. The animals of all groups were put to death by administering into the marginal aural vein magnesium sulphate in the form of a saturated solution in 0.9% NaCl in a dose exceeding 50 mg/kg. Death in all of the animals occurred within 20 – 60 seconds of the injection being administered.

Following this procedure the animals were weighed and a post-mortem examination was performed. After the dissection of the neck area, two ligatures were provided around the trachea in order to prevent lung collapse when the chest was opened up. Opening of the chest was preceded by water tests for the presence of pneumothorax, separately for each chamber. Next, the entire organ set was removed from the chest and specimens were prepared from the heart and thymus together with mediastinal tissues. An organ set encompassing the trachea, bronchi and lungs was left for further histopathological examination. The sets were fixed for the period of 14 days in a solution of 10% buffered formalin. During this time the sets floated freely on the surface, with approx. 40% of their volume immersed in the fixative.

Following the fixation, the organ set was removed from the liquid and the lungs were separated from the trachea and the main bronchi. The dissection was conducted in the closest possible area to the pulmonary hilum. Each of the lungs was immersed separately in a graduated cylinder filled with water and its volume was measured by determining water level after full immersion. In situations when post-mortem examination indicated pneumothorax or other disorders pointing to incorrect aeration of the examined lung, the result was rejected.

## RESULTS

The results have been collected and subjected to statistical analysis. Mean results for particular groups are presented in table 1.

Tabela 1

Wartości średnie wagi i objętości płuc w grupach.

	Waga zwierzęcia (CC)	Objętość płuca prawego	Objętość płuca lewego
<b>Grupa P</b>			
średnia	<b>3677,77</b>	<b>20,28</b>	<b>17</b>
odchylenie std	761,25	8,82	6,02
<b>Grupa PZ</b>			
średnia	<b>3575,39</b>	<b>19,71</b>	<b>14,66</b>
odchylenie std	414,74	4,67	5,23
<b>Grupa D</b>			
średnia	<b>4114,44</b>	<b>20</b>	<b>13,37</b>
odchylenie std	705,53	3,14	3,99
<b>Grupa DO</b>			
średnia	<b>3980</b>	<b>16,71</b>	<b>11,85</b>
odchylenie std	742,5	3,03	2,11
<b>Grupa DL</b>			
średnia	<b>3568,57</b>	<b>17</b>	<b>13,25</b>
odchylenie std	406,28	4,11	2,23
<b>Grupa DLO</b>			
średnia	<b>4070</b>	<b>22,2</b>	<b>16,62</b>
odchylenie std	655,88	5,72	4,49

W tabeli 2 (płuco prawe) i 3 (płuco lewe) przedstawiono, które porównania pomiędzy grupami doświadczalnymi wykazywały znamienność.

Tabela 2

Znamienności statystyczne porównań objętości płuca prawego w grupach \* to  $p < 0,05$ , \*\* to  $p < 0,01$ .

	P	PZ	D	DO	DL	DLO
P	<b>X</b>		*	**	*	*
PZ		<b>X</b>	*	**	*	
D	*	*	<b>X</b>	*		*
DO	**	**	*	<b>X</b>	*	*
DL	*	*		*	<b>X</b>	*
DLO	*		*	*	*	<b>X</b>

Table 1

Mean values with regard to weight and lung volumes in particular groups.

	Animal weight (CC)	Right lung volume	Left lung volume
<b>Grupa P</b>			
Mean	<b>3677,77</b>	<b>20,28</b>	<b>17</b>
std deviation	761,25	8,82	6,02
<b>Grupa PZ</b>			
Mean	<b>3575,39</b>	<b>19,71</b>	<b>14,66</b>
std deviation	414,74	4,67	5,23
<b>Grupa D</b>			
Mean	<b>4114,44</b>	<b>20</b>	<b>13,37</b>
std deviation	705,53	3,14	3,99
<b>Grupa DO</b>			
Mean	<b>3980</b>	<b>16,71</b>	<b>11,85</b>
std deviation	742,5	3,03	2,11
<b>Grupa DL</b>			
Mean	<b>3568,57</b>	<b>17</b>	<b>13,25</b>
std deviation	406,28	4,11	2,23
<b>Grupa DLO</b>			
Mean	<b>4070</b>	<b>22,2</b>	<b>16,62</b>
std deviation	655,88	5,72	4,49

Table 2 (right lung) and table 3 (left lung) show which juxtapositions made among experimental groups indicated statistical significance.

Table 2

Statistical significance regarding volume differences of the right lung in groups: \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ .

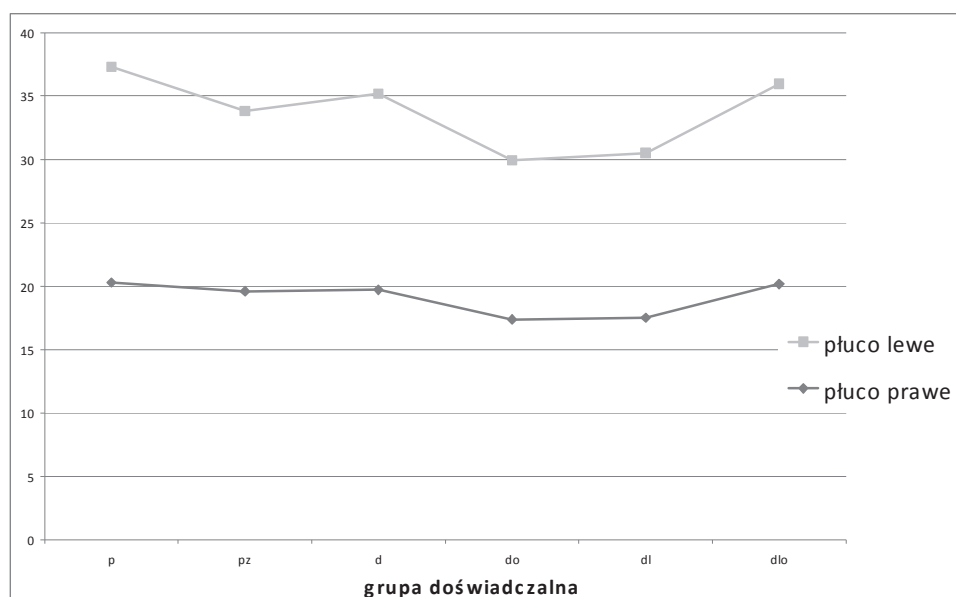
	P	PZ	D	DO	DL	DLO
P	<b>X</b>		*	**	*	*
PZ		<b>X</b>	*	**	*	
D	*	*	<b>X</b>	*		*
DO	**	**	*	<b>X</b>	*	*
DL	*	*		*	<b>X</b>	*
DLO	*		*	*	*	<b>X</b>

Znamienności statystyczne porównań objętości płuca lewego w grupach \* to  $p < 0,05$ , \*\* to  $p < 0,01$ .

	P	PZ	D	DO	DL	DLO
P	X		*	**	*	*
PZ		X	*	**	*	
D	*	*	X	*		*
DO	**	**	*	X	*	*
DL	*	*		*	X	*
DLO	*		*	*	*	X

Jak widać, w obu płucach występują te same pary statystycznie istotnych różnic. Nieistotne statystycznie są jedynie różnice pomiędzy oboma grupami kontrolnymi (P i PZ) oraz między grupami D i DL.

Graficzne przedstawienie różnic objętości płuc w poszczególnych grupach doświadczalnych widoczne jest na rysunku 1.



Rys. 1. Zmiany objętości płuc zwierząt z poszczególnych grup badanych.

Dla porównania stosunku objętości płuc do wagi zwierzęcia, odrzucono najpierw wagi tych zwierząt, u których stwierdzono widoczne makroskopowo zaburzenia powietrzności płuc. Następnie zsumowano objętość obu płuc każdego zwierzęcia, wyliczono wartości średnie i wyliczono ich stosunek do wagi zwierząt w poszczególnych grupach. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.



Table 3

Statistical significance regarding volume differences of the left lung in groups: \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ .

	P	PZ	D	DO	DL	DLO
P	X		*	**	*	*
PZ		X	*	**	*	
D	*	*	X	*		*
DO	**	**	*	X	*	*
DL	*	*		*	X	*
DLO	*		*	*	*	X

As we see, both lungs displayed the same statistically significant differences. The only statistically insignificant differences were those between the control groups (P and PZ) as well as D and DL.

Graphic representation of lung volume differences in particular experimental groups is depicted in fig. 1.

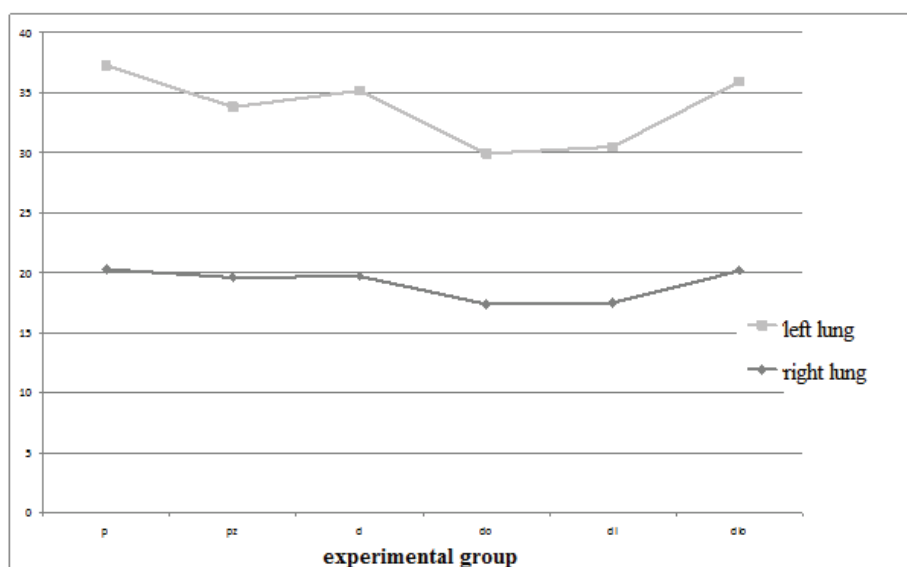


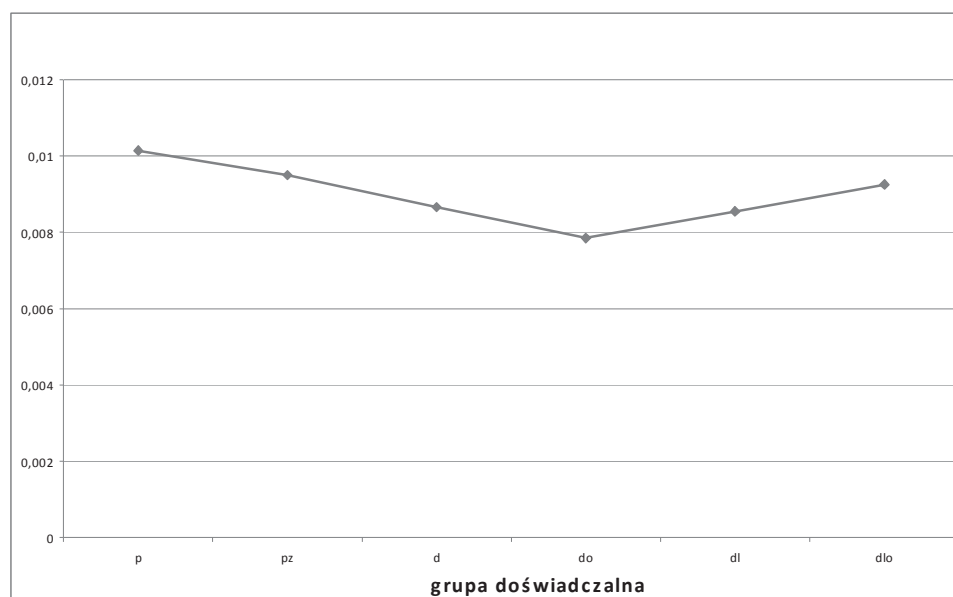
Fig. 1. Lung volume changes in animals from particular research groups.

For the purpose of conducting a comparison between lung volume ratios in relation to animals' weights, the weights of animals with visible macroscopic lung aeration disorders were rejected. Next, lung volumes of each animal were summed up, mean values calculated and their proportion to animals' weights in particular groups estimated. The results are presented in table 4.

Stosunek sumy objętości płuc do wagi zwierząt w grupie doświadczalnej.

	Waga zwierzęcia(CC)	Objętość płuca prawego	Objętość płuca lewego	Suma objętości płuc (V)	V / CC
Grupa P					
średnia	3677,77	20,28	17	37,28	<b>0,010138</b>
Grupa PZ					
średnia	3558,33	19,6	14,2	33,8	<b>0,009499</b>
Grupa D					
średnia	4063	19,71	15,46	35,18	<b>0,008659</b>
Grupa DO					
średnia	3814,16	17,37	12,55	29,93	<b>0,007847</b>
Grupa DL					
średnia	3568,57	17,5	13	30,5	<b>0,008547</b>
Grupa DLO					
średnia	3884,44	20,16	15,77	35,94	<b>0,009253</b>

Graficzne przedstawienie różnic stosunku objętości płuc do wagi zwierzęcia w poszczególnych grupach doświadczalnych widoczne jest na rysunku 2.



Rys. 2. Stosunek objętości płuc do wagi zwierząt.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wbrew oczekiwaniom zmierzona objętość płuc zwierząt poddanych urazowi ciśnieniowemu płuc nie rosła, lecz malała. Objętości mierzone w grupie kontroli zabiegu (PZ) były nieznacznie i niezamiennie statystycznie mniejsze, niż w grupie kontrolnej (P). Natomiast w pozostałych grupach objętość płuc osiągała mniejsze wartości w stosunku do grup porównawczych. Najmniejsze objętości płuc stwierdzono w grupie DO. Nieco mniejsza była różnica pomiędzy grupami kontrolnymi a grupami D i DL, które pomiędzy sobą różniły się nieznacznie i w sposób nieznamienisty statystycznie.

Table 4

Total lung volume in relation to animals' weight in the experimental group.

	Animal weight (CC)	Right lung volume	Left lung volume	Total lung volume (V)	<b>V / CC</b>
Group C					
Mean	3677.77	20.28	17	37.28	<b>0.010138</b>
Group PZ					
Mean	3558.33	19.6	14.2	33.8	<b>0.009499</b>
Group E					
Mean	4063	19.71	15.46	35.18	<b>0.008659</b>
Group DO					
Mean	3814.16	17.37	12.55	29.93	<b>0.007847</b>
Group DL					
Mean	3568.57	17.5	13	30.5	<b>0.008547</b>
Group DLO					
Mean	3884.44	20.16	15.77	35.94	<b>0.009253</b>

Graphic representation of lung volume differences in relation to weights of animals from particular experimental groups has been depicted in fig. 2.

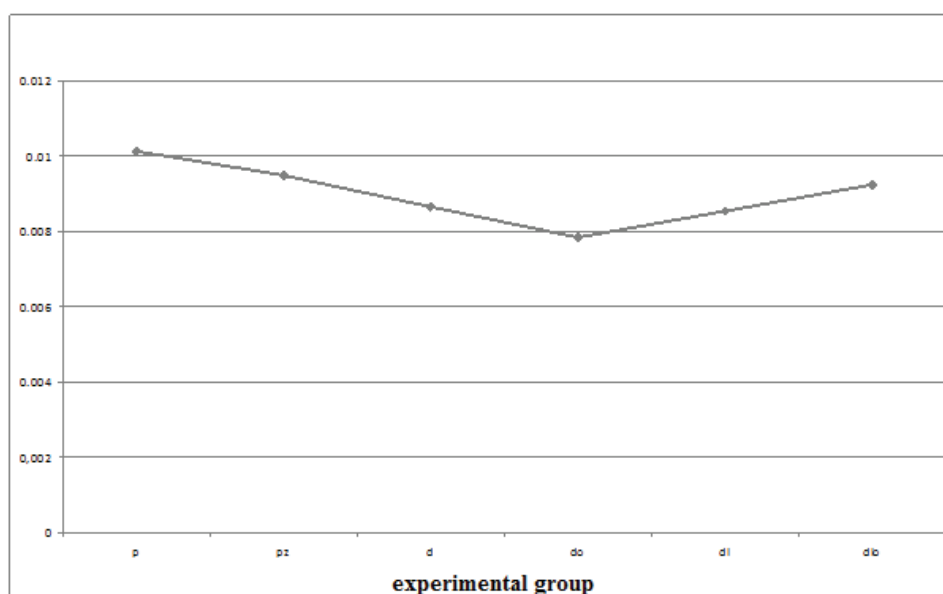


Fig. 2. Lung volume in relation to animals' weights.

## DISCUSSION OF RESULTS

Contrary to researchers' expectations, the lung volumes in animals subjected to pulmonary barotrauma tended to decrease in size. The volumes measured in treatment control group [PZ] were insignificantly lower than those in control group [P]. However, in the remaining groups, lung volume values were smaller than those obtained for comparative groups. The smallest lung volumes were observed in group DO.

Natomiast grupa DLO wykazywała wartości objętości nieznacznie jedynie mniejsze, niż w grupach kontrolnych i nie wykazywała znamienności statystycznej w porównaniu z grupą kontroli zabiegu PZ. W obu płucach zmiany przebiegały w identyczny sposób.

Wyjaśnienia wymaga fakt, iż badania makroskopowe – pomiary objętości wykazały spadek objętości, natomiast przeprowadzone na tych samych płucach badania mikroskopowe w tym ilościowe wykazały zwiększenie objętości przestrzeni powietrznych.

Przyczyną tej pozornej sprzeczności może być zmiana struktury ściany pęcherzyka płucnego. W badaniach własnych pęcherze rozdęciowe podopłucnowe stwierdzono u 40% królików grupy D, natomiast w całej grupie poddanej UCP (D+DO+DL+DLO) wystąpiły one u ok. 27% zwierząt. Pęcherze rozdęciowe były zapewne następstwem uszkodzenia mechanicznego przez powietrze gwałtownie zwiększające swoją objętość, zatrzymane podczas dekompresji w drzewie oskrzelowo-pęcherzykowym. Warto tu nadmienić, że u zwierząt tych nie stwierdzono wykładników proteolitycznego uszkodzenia włókien sprężystych w mięszu płucnym. Nie były to zatem zmiany rozedmowe we współczesnym rozumieniu tego typu uszkodzenia mięszu płucnego [16].

Zwiększenie prawidłowych i patologicznych przestrzeni powietrznych płuc w UCP spostrzegali i inni autorzy [11, 17]. Warto w tym miejscu podkreślić, że w badaniach własnych oceniano objętość jedynie naturalnych przestrzeni powietrznych płuc, bowiem króliki ze zmianami patologicznymi były eliminowane z dalszych badań.

Niektórzy autorzy uważają jednocześnie, że UCP powoduje zmniejszenie tzw. podatności płuc, u podłoża której leży uszkodzenie włókien łącznotkankowych, w tym głównie sprężystych. W efekcie końcowym tych zmian dochodzi do pęknięcia ścian pęcherzyków płucnych i rozedmy śródmięszkowej płuc [6].

Pęknięcie, bądź rozciąganie ścian pęcherzyków płucnych prowadzi, jak wspomniano powyżej, do uszkodzenia włókien łącznotkankowych stanowiących ich „szkielet”. Rozległe uszkodzenia łącznotkankowego zrębu płuca może stanowić przyczynę większej podatności mięszu płucnego na oddziaływanie mechaniczne, zmniejszenia sprężystości, spoistości i konsystencji płuca. Taka zmiana struktury płuca mogła być podczas mierzenia objętości, polegającego na zanurzaniu pod powierzchnię wody, przyczyną zmian jego objętości pod wpływem ciśnienia hydrostatycznego.

Należy pamiętać, że pakiety tkankowe były utrwalane z zachowaniem powietrzności, czyli w płucu w momencie pomiaru objętości znajdowało się powietrze i pewna ilość formaliny, która zdążyła zdyfundować do jego wnętrza. Podczas zanurzania w wodzie powietrze ulegało sprężeniu, a stopień odkształcenia płuca zależał wyłącznie od oporu mechanicznego stawianego przez jego strukturę. Im więc bardziej była ona uszkodzona, tym do większego odkształcenia mogło dojść.

Obserwowane różnice pomiędzy badanymi grupami sugerują, że stopień uszkodzenia struktury ścian pęcherzyków płucnych jest różny w zależności od czasu, jaki upłynął od doznania urazu, a także od zastosowania leczenia hiperbarycznego. Nieznaczne różnice obserwowane również pomiędzy grupą kontrolną a kontroli zabiegu sugerować mogą, iż szybka dekompresja, nawet bez uniedroźniania dróg oddechowych może spowodować zmiany struktury skutkujące mniejszymi wartościami podczas pomiaru objętości. Zmiany w tej grupie zwierząt potwierdzono również podczas badań mikroskopowych i makroskopowych [18].

Dla pełnego wyjaśnienia przyczyn zmian objętości płuc zwierząt poddanych urazowi ciśnieniowemu płuc i potwierdzenia, bądź wykluczenia sugerowanego powyżej patomechanizmu, niezbędne są dalsze badania morfologiczne, w tym ilościowe, zmian w strukturze włókien łącznotkankowych w ścianach pęcherzyków płucnych.

A slightly smaller difference was noted between the control groups and groups D and DL, which were rather similar and exposed only statistically insignificant differences between them. Group DLO, on the other hand, indicated only slightly smaller lung volume values as compared with the control groups and showed no statistical significance in relation to treatment control groups PZ. In both lungs changes occurred in an identical manner.

A fact requiring some explanation is that in macroscopic examinations lung volume measurements pointed to a volume decrease, whereas microscopic examinations, including quantitative measurements, carried out on the same specimens, suggested an increase in air space volumes.

The reason for this apparent discrepancy may lie in a change in the alveolar wall structure. In the course of the authors' own studies, subpleural distension alveoli were noted in 40% of the rabbits from group D, whereas in the entire group of animals subjected to PB (D+DO+DL+DLO) they were observed in 27% of the animals. The occurrence of distension alveoli presumably resulted from mechanical damage caused by the air, trapped in the broncho-alveolar tree during decompression, rapidly increasing its volume. It is worth mentioning that in those animals no exponents of proteolytic damage to the elastic fibres in pulmonary parenchyma occurred. Thus, the detected changes could not have been emphysemic in the modern understanding of this type of pulmonary parenchyma damage [16].

An enlargement of regular and pathological air spaces in the lungs during PB was also noted by other authors [11, 17]. It should be emphasized that the presented study focused on an evaluation of only natural pulmonary air spaces, with the rabbits displaying pathological lesions eliminated from further examinations.

At the same time, some authors claim that PB results in a reduction in the so-called pulmonary compliance due to connective tissue fibre damage, mainly elastic fibres. In the final stage, alveolar walls rupture followed by an occurrence of interstitial emphysema [6].

As mentioned before, rupturing or straining of the walls of the pulmonary alveoli results in damage to connective tissue fibres constituting their "framework". Vast damage to the connective tissues of the lungs may constitute the reason for an increased susceptibility of pulmonary parenchyma to mechanical factors, reduction of its elasticity, cohesion and consistency. Such a change to the lung structure could have appeared during volume measurements involving the lungs being immersed in water, and be an immediate consequence of hydrostatic pressure effect.

It should be remembered that tissue sets were fixed by preserving their aeration, i.e. during the measurement a certain amount of air was present in the lung as well as some formalin that was diffused inside it. During the immersion in water the air was subjected to compression, and the distortion level was dependent solely on the mechanical resistance of its structure. Thus, the more it was damaged, the greater the possible distortion.

Differences observed between researched groups suggest that the level of damage to the structure of alveolar walls varied depending on the time elapsing from trauma occurrence, as well as the applied hyperbaric treatment. Slight differences noted also between the control and treatment control groups may imply that quick decompression, even without an obstruction of the respiratory tract, may evoke structural changes resulting in smaller volume measurement values. Changes in this group of animals were also confirmed during micro- and macroscopic examinations [18].

A more comprehensive explanation of the reasons behind changes in lung volumes in animals subjected to pulmonary barotrauma, or a more definite exclusion of the above pathomechanism, require further morphological examinations, including quantitative ones, on structural changes in the connective tissue fibres of pulmonary alveoli.

## **WNIOSKI**

- Przebycie UCP powoduje zmniejszenie objętości izolowanych i utrwalonych płuc zwierząt doświadczalnych.
- Zastosowanie leczenia hiperbarycznego w istotny sposób ogranicza nasilenie tych zmian przy dłuższym czasie obserwacji.
- Możliwą przyczyną zmian może być uszkodzenie włókien łącznotkankowych w ścianie pęcherzyków płucnych, co wymaga jednak dalszych badań.

## CONCLUSIONS

- PB occurrence is linked to volume reduction in the isolated and fixed lungs of experimental animals.
- The application of hyperbaric treatment significantly reduces the intensification level of the described changes as it was noted in groups with a longer observation time.
- A possible reason for the said changes may be sought in the damage inflicted on connective tissue fibres in the alveolar walls, which, however, requires further research.

## BIBLIOGRAPHY

1. Lim EB, How J: A review of cases of pulmonary barotrauma from diving. *Singapore.Med.J.* 1993, 34(1): 169;
2. Calder IM: Autopsy and experimental observations on factors leading to barotrauma in man. *Undersea Biomed.Res.* 1985, 12(2): 165 – 182;
3. Edmonds C, Lowry C, Pennefather J: Diving and subaquatic medicine. Sydney Australia Diving Medical Centre Publication 1984;
4. Elliot D.: The decompression diseases. *SPUMS* - Oct.-Dec. 1981: 25 – 35;
5. Strauss R: Diving Medicine. New York. USA Grune & Stratton. 1976: 35-63, 83-97, 303-317, 341-348;
6. Colebath HJ, Nog CK: Decreased pulmonary distensibility and pulmonary barotrauma in divers. *Respir.Physiol.* 1991, 86(3) 293 – 303;
7. Parker JC, Hernandez LA, Peevy KJ: Mechanisms of ventilator induced lung injury. *Crit.Care.Med.* 1993, 21(1): 131 – 43;
8. Macklin MT, Macklin CC: Malignant interstitial emphysema of the lungs and mediastinum as an important occult complication in many respiratory diseases and other conditions: An interpretation of the clinical literature in the light of laboratory experiment. *Medicine* 1944, 23: 281 – 358;
9. van Allen CM, Hrdina LA, Clark J: Air embolism from the pulmonary vein - a clinical and experimental study. *Arch. Surg.* 1929, 19, 567 – 599;
10. Bennet P, Elliot D: The physiology and medicine of diving. London Bailliere Tindall, 1993;
11. Rouby JJ, Lherm T, Martin de Lassale E, Poete P, Bodin L, Finet JF, Callard P, Viars P: Histologic aspects of pulmonary barotrauma in critically ill patients with acute respiratory failure. *Intensive. Care. Med.* 1993, 19(7): 383 – 9;
12. Siermontowski P, Zieliński K, Kozakiewicz M, Olszański R, Koktysz R, Dąbrowiecki Z: Histoarchitectural changes of rabbit lung parenchyma in the course of experimental barotrauma evaluated by quantitative method. *Bull. Vet. Inst. Puławy* 2011, 55: 355 – 359;
13. Siermontowski P, Kozłowski W, Romuald Olszański R, Pedrycz A: Znaczenie modelu doświadczalnego urazu ciśnieniowego płuc w badaniu wypadków nurkowych. *PolHypRes* 2012 1(38): 7-28 Polish [The importance of the experimental model of lung barotrauma in the study of diving accidents];
14. Austauschabelle für das Tauchen mit Pressluftgeräten. Behandlungstabelle für Caissonkrankheit und Luftembolie. Lübeck Drägerwerk AG 1983 German [Decompression table for diving with compressed air equipment. Treatment table for caisson and air embolism];
15. Olejnik A: Wentylacja komory dekompresyjnej podczas powietrznych ekspozycji hiperbarycznych. Gdynia PTMiTH 2007: 21-29, 120-122 Polish [Ventilation air decompression chamber during hyperbaric exposures];
16. Sułkowski ST: Morfogeneza doświadczalnej rozedmy płuc. - rozprawa habilitacyjna. Białystok Akad. Med. Wyd. Uczelniane 1994 Polish [Morphogenesis of experimental pulmonary emphysema];

17. Philit F, Petit JY, Thomas X, Gaussorgues P, Robert D: Subpleural air cysts. A complication of barotrauma during mechanical ventilation. *Rev.Mal.Respir.* 1990, 7(4): 343 8;
18. Siermontowski P, Kozłowski W, Pedrycz A, Krefft K: Miejscowy uraz ciśnieniowy płuc – wstępne wnioski z badań doświadczalnych. *PolHypRes* 2012 4(41): 21 – 42 Polish [Local pulmonary barotrauma - initial conclusions from an experimental research].

**dr med. Piotr Siermontowski**  
Zakład Medycyny Morskiej  
i Hiperbarycznej  
Wojskowy Instytut Medyczny  
ul. Grudzińskiego 4 81-103 Gdynia 3  
skr. poczt. 18  
e-mail: nurdok@tlen.pl

**prof. dr hab. med. Wojciech Kozłowski**  
Zakład Patomorfologii  
Wojskowy Instytut Medyczny  
ul. Szaserów 128 01-141 Warszawa 44  
tel. 22/6816645 tel. MON 816645  
e-mail: wojciechkozowski@interia.pl

**dr hab. med. Agnieszka Pedrycz**  
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii  
z Pracownią Cytologii Doświadczalnej  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
ul. Radziwiłłowska 11 20-080, Lublin  
e-mail: apw4@wp.pl

## **ИССЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ КОРРЕЛЯЦИИ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРИНФЛЯЦИИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ К ИХ МАССЕ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ**

Исследование легких водолазов, которые подверглись легочной баротравме, а также экспериментальные исследования, в том числе мои собственные, как макроскопические, так и микроскопические показали изменение паренхимы легких, характеризующееся расширением воздушных пространств. Наблюдения показали, что доминирует растяжение.

Целью данного исследования являлось изучение, используя проверенный собственный модель экспериментальный, изменения объема легких после получения баротравмы. Объем изолированных, фиксированных легких измерялся методом скользящего смещения.

Ожидалось увеличение объема легких после баротравмы по сравнению с контрольной группой. Измеренный объем легких у экспериментальной группы был меньше по сравнению с контрольной группой. Снизилось также отношение объема легких к массе животного. Был сделан вывод о том, что причиной этих результатов могут быть повреждения соединительнотканых волокон в стенках альвеолы в результате баротравмы и, таким образом, более высокая механическая восприимчивость легких, а также уменьшение объема под влиянием гидростатического давления.

**Ключевые слова:** баротравмы, объем легких, повреждение соединительнотканых волокон.