

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Strukturveränderung der Lunge nach Einwirkung hohen Sauerstoffdruckes

M. NASSERI und E. S. BÜCHERL

Chirurgische Klinik der Städtischen Krankenanstalten Berlin-Neukölln
(Direktor: Prof. Dr. med. E. S. BÜCHERL)

J. WOLFF

Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. W. SCHWARZ)

Eingegangen am 27. Oktober 1966

Es ist eine überraschende Tatsache, daß der für das Leben eines Organismus wichtigste aller Stoffe, der Sauerstoff, zum tödlichen Gift wird, wenn er eine bestimmte Konzentration und Wirkungsdauer überschreitet. Die Schädigungen manifestieren sich im allgemeinen im neuromuskulären Gewebe und in der Lunge. Dabei wurden vorwiegend Lungenstauung, Ödeme, Bronchitis und Bronchopneumonie beschrieben (PICHOTKA, 1941; MARECHAUX, 1943). Neue pathologisch histologische Befunde von BERFENSTAM, 1954 und NASSERI, 1966 und die wiederholte Beobachtung einer Lungenschädigung bei der klinischen Anwendung von hyperbarem Sauerstoff ließen weitere Untersuchungen erforderlich erscheinen.

Methodik

27 Albinoratten mit einem Körpergewicht von 100—300 g wurden in einer Überdruckkammer verschiedenen Sauerstoffdrucken ausgesetzt. So ergaben sich folgende Gruppen:

- | | | |
|--------------|----------------------|------------------|
| 0. Gruppe: | Luftatmung | = Kontrollgruppe |
| I. Gruppe: | Sauerstoffatmung bei | 1 atü (2 ata) |
| II. Gruppe: | Sauerstoffatmung bei | 2 atü (3 ata) |
| III. Gruppe: | Sauerstoffatmung bei | 3 atü (4 ata) |

Jede Gruppe wurde in drei Untergruppen unterteilt, wobei die Expositionszeit für die einzelnen Untergruppen jeweils 2, 4 und 6 Std betrug. Die Einschleuszeit betrug durchschnittlich 20—30 min, die Ausschleusung erfolgte in 45—60 min. Bei den sofort durch intraperitoneale Injektion von Pentothal (30 mg/kg) narkotisierten Tieren wurde, unmittelbar nach der Eröffnung des Thorax, die Lunge in 1%iger eiskalter, auf pH 7,40 gepufferter OSO_4 zerschnitten und später in Vestopal eingebettet. Ein Teil der Lunge wurde durch vasculäre Perfusion durch den rechten Ventrikel mit OSO_4 fixiert. Die Herstellung der lichtmikroskopischen Präparate ist in einer früheren Arbeit beschrieben worden (NASSERI, 1966).

Ergebnisse

I. Histologie (Paraffinschnitte)

Bei der *Kontrollgruppe 0* zeigt der größte Teil der Lunge jeweils ein normales Bild. Nur in umschriebenen Bezirken erscheinen die Alveolarsepten verdickt. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man jedoch die normale Kerndichte (Zellzahl/Gewebsvolumen). Die Capillaren sind zum Teil erkennbar (Abb. 1a).

Bei der Gruppe I (1 atü) ist der Bereich normalen Lungengewebes deutlich vermindert. Ein großer Teil weist die oben beschriebenen Verdickungen der Alveolarwände auf (Abb. 1 b). Zum Teil sind die Alveolen ganz verschwunden (Abb. 1 c und d). Der Luftraum erscheint dann auf die ehemaligen Ductuli alveolares beschränkt. Die Zunahme der Kernzahl in verdickten Septen ist deutlich. Im ganzen ist der Anteil des Luftraumes gegenüber der Gewebsmasse vermindert.

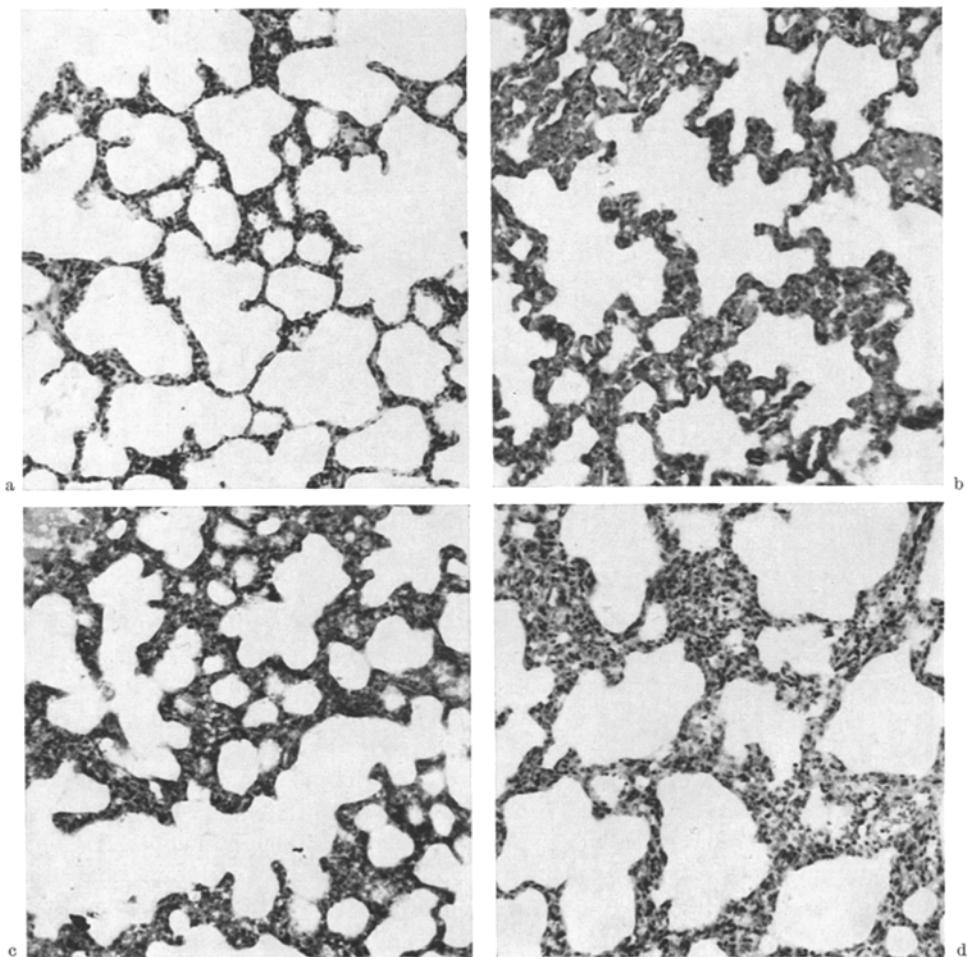


Abb. 1 a—f. Paraffinschnitte der Rattenlunge. Vergr. 140:1. a Kontrolle. b 1 atü O₂, 4 Std: Starke Faltung, Verdickung und Zellvermehrung der Septen. c 1 atü O₂, 6 Std: Septen verdickt, Abflachung und Schwund von Alveolen. d 2 atü O₂, 4 Std: Fast völliger Schwund der Alveolen mit starker Verdickung der Septen

Bei der Gruppe II (2 atü) ist das Lungengewebe schwer verändert, d.h., die normale Lungenstruktur fehlt ganz (Abb. 1 e). Jetzt finden sich neben den typischen oben beschriebenen Verdickungen die ersten homogenen Präcipitate in den Ductuli alveolares.

Die schwersten Lungenveränderungen zeigt die Gruppe III (3 atü). Hier werden viele Lufträume von eosinophilen, homogenen, z.T. blasig unterbrochenen,

Präcipitaten gefüllt, die an der Oberfläche des Lungengewebes intensiver gefärbt sind (Abb. 1f). Die Zellen und Kerne sind jetzt im Lungengewebe deutlich und allgemein geschwollen. Die Septen erscheinen daher kernärmer, weil die Kerne durch die Schwellung der Zellen weiter auseinandergerückt sind. Daneben gibt es aber immer noch Bezirke mit normaler Kerndichte und kleine, besonders oberflächlich gelegene Bereiche mit offenen Alveolen und Capillaren.

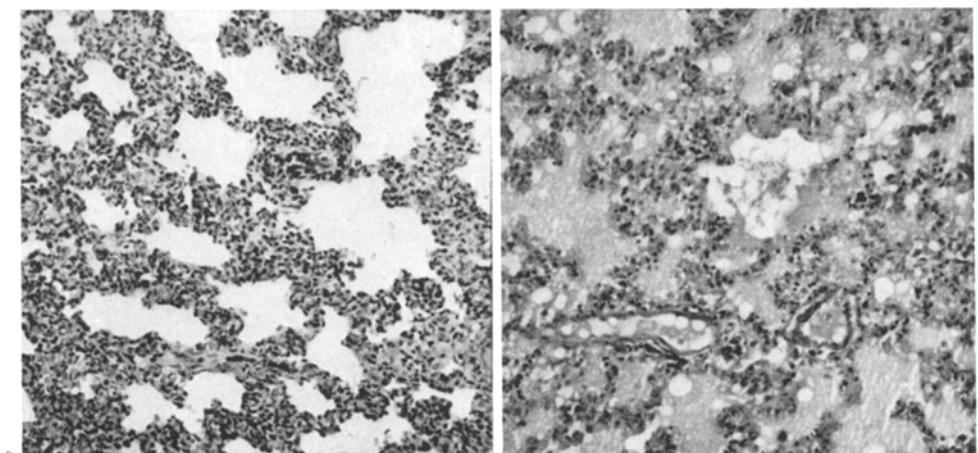


Abb. 1. e 2 atü O₂, 6 Std: Einengung des Luftraumes durch solide Zellaggregate
f 3 atü O₂, 4 Std: Eosinophile, homogene, wabige Präcipitate in den Ductuli alveolares

II. Histologie (Vestopalschnitte)

Gegenüber der normalen Alveolenwand (Abb. 2a) wird im Vestopalschnitt deutlich, daß ein großer Teil der Capillaren in den gefalteten Alveolwänden geschlossen ist, nur die oberflächlichen sind noch geöffnet (Abb. 2b). Viele Zellkerne erscheinen geschwollen und haben eine homogene Innenstruktur. Die Verdickung der Septen ist durch eine zieharmonikaartige Faltung und Zellschwellung bedingt (Abb. 2c, Pfeile). Bei höherem Sauerstoffdruck (3 atü) oder langer Dauer bei geringerem Druck (z. B. 6 Std bei 2 atü) fällt eine Aufhellung, Vergrößerung und Vacuolisierung besonders von Nischenzellen auf, die sich schließlich von der Alveolenwand ablösen und in zunehmender Zahl in den Alveolarlumina und den Ductuli alveolares liegen (Abb. 2d). Die Endstadien (2—4 Std 3 atü) führen zu extremen Veränderungen. Große Teile des Lungengewebes werden in solide Zellaggregate umgewandelt, in denen viele Zellkerne und fast alle Zelleiber vergrößert sind. Dabei scheinen dichte Zellkerne mit einer starken Vacuolisierung des Cytoplasmas und Kernschwellung mit homogener Vergrößerung und Aufhellung des Cytoplasmas verbunden zu sein. In den offenen Alveolarlumina und Ductuli alveolares befinden sich homogene Ausgüsse, die Erythrocyten und Makrophagen enthalten.

III. Elektronenmikroskopie

Die elektronenmikroskopischen Bilder der Kontrollgruppe entsprechen in allen Einzelheiten normaler Lungenstruktur.

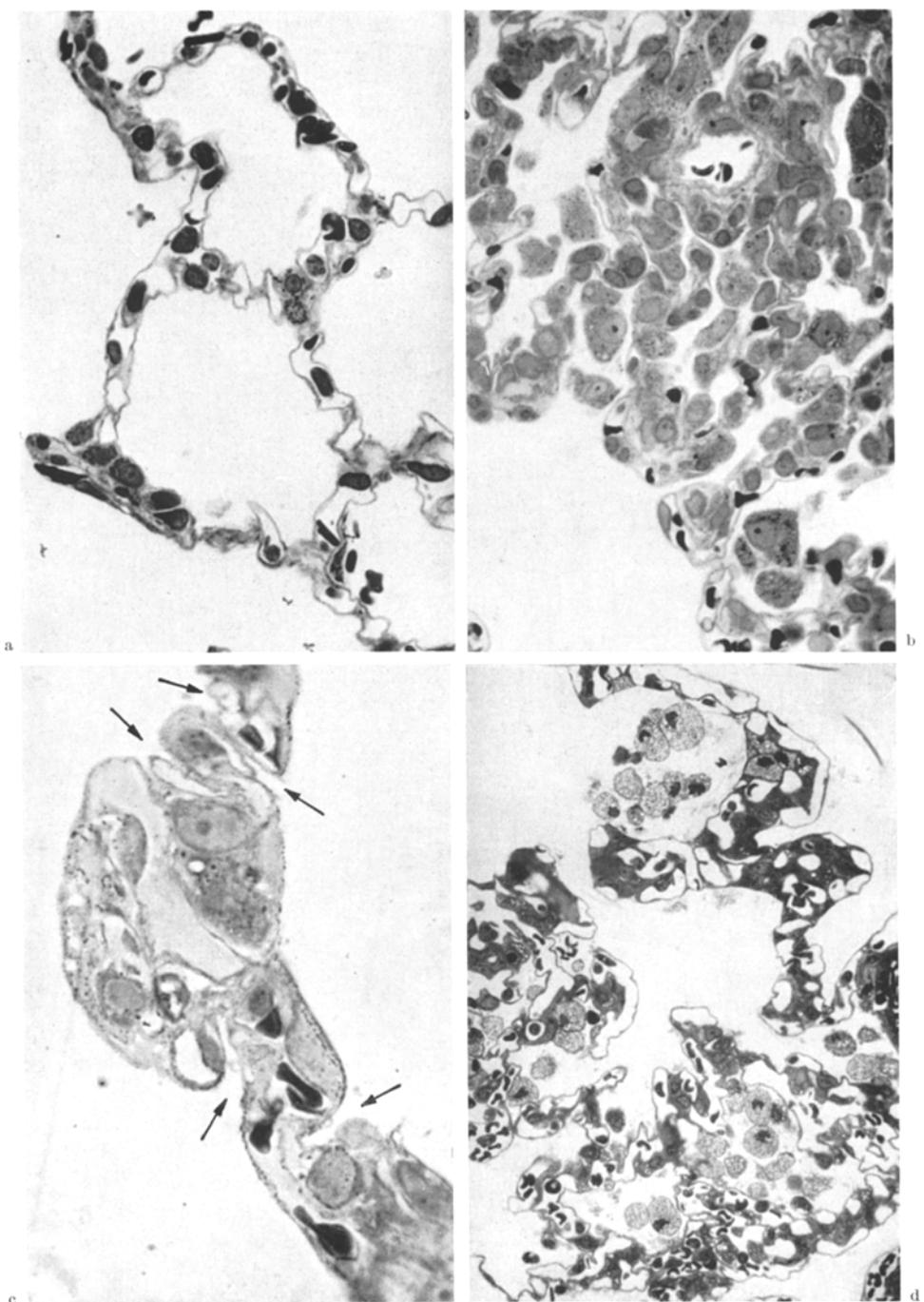


Abb. 2a—d. Vestopalschnitte der Rattenlunge. a Ausschnitte aus einer normalen Lunge. b 1 atü O₂, 6 Std: Verdickung der Ductus- und Alveolarwände durch Faltung der Septen. Capillaren zum größten Teil geschlossen. c 1 atü O₂, 6 Std: Deutliche Faltung der Alveolarsepten (Pfeile). d 3 atü O₂, 2 Std: Vacuolierte und vergrößerte Nischenzellen z.T. von der Alveolarwand abgelöst. Vergr. a, b 560:1; c 1400:1; d 350:1

Bei *I atü* ist nach 2 Std die Feinstruktur aller Zellarten, die Basalmembran und das Interstitium kaum verändert. Das Gewebe ist unübersichtlich, weil die Septen so stark gefaltet sind, daß die z.T. kollabierten Capillaren dicht nebeneinanderliegen und die abgeflachte epitheliale Alveolardecke nur spaltförmig Reste des Alveolarlumens (Weite 0,1 bis mehrere μ) erkennen läßt. Nach 4 Std findet man in stark gefalteten Alveolarsepten manchmal geschwollene Endothelien, die die Capillarlumina einengen. Das Ergastoplasma der Fibrocyten ist oft erweitert,

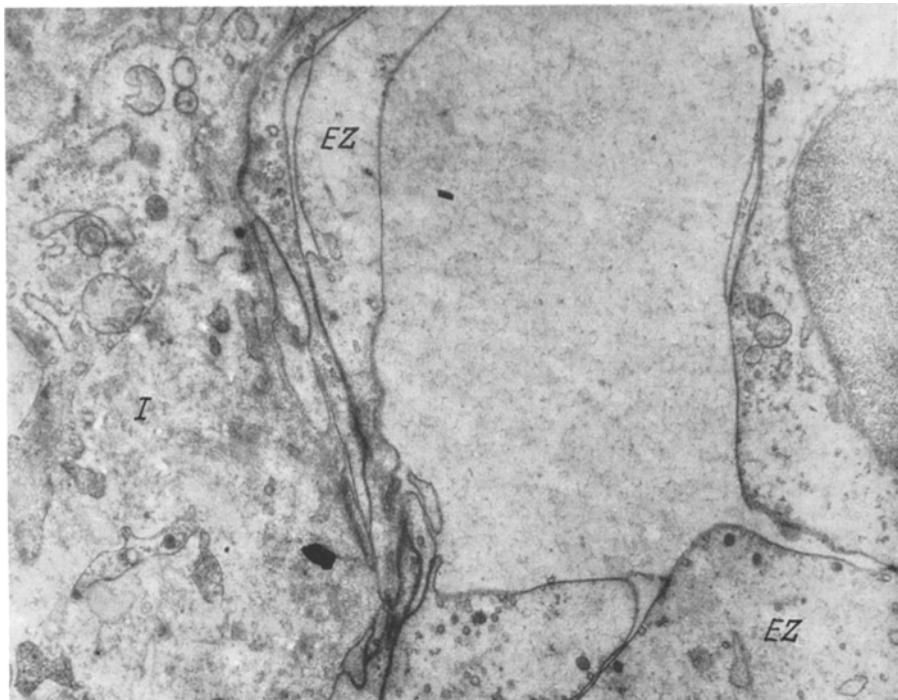


Abb. 3. 2 atü O₂, 4 Std: In den Capillarwänden sind die Endothelzellen (EZ) geschwollen. I Interstitium.
Vergr. 25000:1

der Anteil des Interstitiums erscheint jedoch nicht vergrößert und ödematos. Nach 6 Std enthalten die Capillaren ungewöhnlich viele eosinophile Leukocyten und Thrombocyten.

Bei *2 atü* fällt eine starke Schwellung und Aufhellung des Cytoplasma der Bindegewebszellen auf, zwischen denen die Retikulinfasern und elastischen Fasern auf engem Raum zusammengepreßt sein können. Die Schwellung von Endothelzellen ist in dieser Gruppe häufiger zu beobachten (Abb. 3). Die intracellulären Membransysteme (endoplasmatisches Reticulum, Mitochondrien, Lamellenkörper usw.) der Nischenzellen sind erweitert, was wohl dem „vakuolisierten“ Aspekt dieser Zellen in den Vestopaldickschnitten entspricht. Die Alveolardeckzellen, besonders ihre abgeflachten Teile, sind kaum verändert. Diese Veränderungen treten mit der Dauer der Exposition vermehrt und verstärkt auf. Nach 4—6 Std sind die Endothelien der Capillare fast alle geschwollen und manchmal von voluminösen Erythrocyten und Thrombocyten ausgefüllt, zwischen denen nur so schmale Spalten mit relativ dichtem, körnigen Material (eingedicktes Blutplasma) zu beobachten sind.

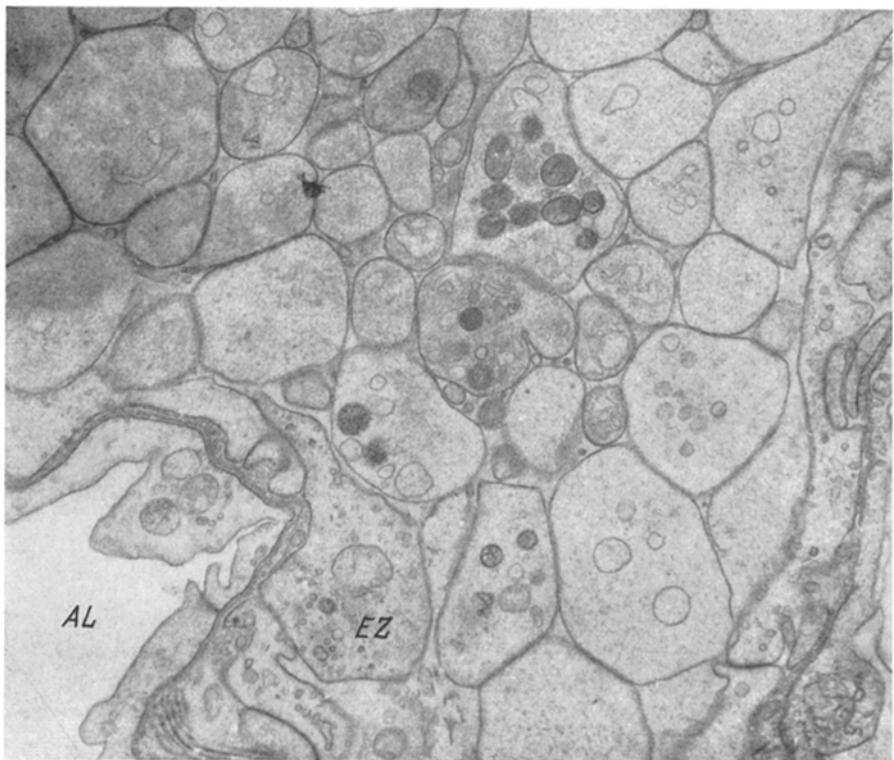


Abb. 4. 3 atü O₂, 2 Std: Die Capillare ist ausgefüllt und von dicht gepackten Thrombocyten. AL Alveolarraum, EZ Endothelzelle. Vergr. 15000:1

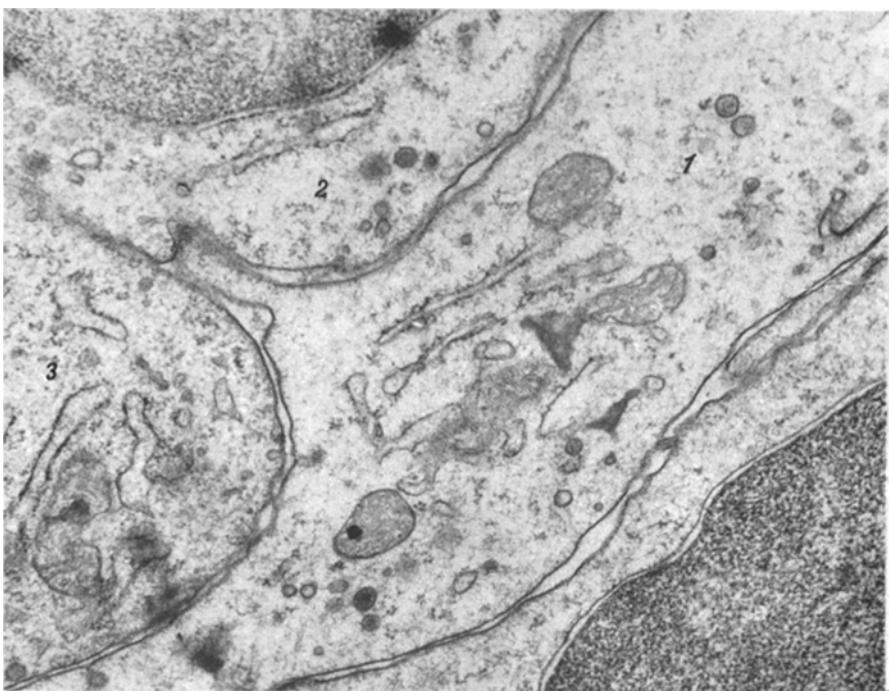


Abb. 5. 3 atü O₂, 2 Std: Das Interstitium enthält voluminöse „lymphoide Zellen“ (1—3). Einige zeigen noch Ergastoplasmateile, wie sie typisch für Fibrocyten sind (2—4). Vergr. 30000:1

Bei 3 atü Sauerstoff sind die oben beschriebenen Veränderungen bereits nach 2 Std voll ausgebildet. Viele Capillaren sind vollständig von dicht gepackten Thrombocyten „ausgemauert“ (Abb. 4). Auch hier zeigen die Alveolardeckzellen geringe oder keine Veränderungen. Nur wenige Tiere überlebten 4 Std. Ihre Lungen zeigten dann fast überall verstopfte oder kollabierte Capillaren und geschwollene Endothelien und Bindegewebszellen. Letztere sehen dann wie „lymphoide Zellen“ aus (Abb. 5).

Besprechung der Ergebnisse

Die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren eindeutige Veränderungen des Lungenparenchyms unter der Einwirkung des Sauerstoffs in höherer Konzentration. Es handelt sich um eine Verbreiterung und Faltung der Alveolarsepten, die bereits nach 2 Std durch die Einwirkung von 1 atü Sauerstoff eintreten und um die Okklusion der kleinen Capillare, die erst nach 4 bzw. 6 Std stärker hervortritt.

Die fleckige Verdickung der Alveolarsepten scheint durch die Zellschwellung im Interstitium oder Zellmigration bedingt zu sein. Diese Tatsache könnte als ein Hinweis auf eine Permeabilitätsstörung der Capillare gelten. Die Okklusion der Capillare wird einerseits durch die Quellung und Vacuolisierung der Endothelzellen mit stärkerer Vorwölbung in der Capillarlumina bedingt, andererseits findet man Capillaren in den gefalteten Alveolarwänden, die völlig geschlossen sind und den Eindruck erwecken, daß sie durch den erhöhten interstitiellen Druck komprimiert worden sind.

Diese vasculären Veränderungen werden in höheren Sauerstoffdruckbereichen deutlicher. Inwieweit der Verschluß dieser Gefäße als Folge einer aktiven Constriction der Lungengefäße durch direkte Sauerstoffwirkung auf die glatte Gefäßmuskulatur (GAYTON, 1964) oder als Folge äußerer Kompression aufzufassen ist oder ob beide Faktoren dabei zusammenwirken, bleibt offen. Naheliegend erscheint die erste Auffassung, zumal in vivo und in vitro eine Vasoconstriction unter der Wirkung von Sauerstoff bereits nachgewiesen wurde (CARRIER, BERNE, GUYTON u. Mitarb. 1964, BERGOFSKY u. BERTUN, 1966; LAMBERTSEN, 1953).

JACOBSON, 1964 und RENNIE, 1964, die ebenfalls in verschiedenen Organen eine Erhöhung des Gefäßwiderstandes unter der Einwirkung hyperbaren Sauerstoffs nachweisen konnten, denken an eine Verminderung des Gefäßquerschnittes.

Die Schwellung von Endothelzellen und die Extravasate (Plasma, Erythrocyten) lassen jedoch darüber hinaus auch an eine direkte Schädigung der Capillarwand mit Permeabilitätsänderungen denken.

Die Vacuolisierung der Mitochondrien und Fibrocyten sowie Nischenzellen und ihr erweitertes Ergastoplasma könnte man als degenerative Veränderungen dieser Zellen ansehen. Sie sind besonders an den freien Makrophagen in den rudimentären Alveolarräumen bei 2 atü nach 2 Std Sauerstoffwirkung zu erkennen. Sicher ist aber, daß Schwellungen und Vacuolisierung der Mitochondrien als Zeichen des gestörten Zellatmungssystems gelten, die zur Störung der Sauerstoffversorgung und zum Zelltod führen (TAPLEY, 1956). Auch SCHULZ (1958, 1959) beschreibt eine Verdickung der Alveolarwände unter Sauerstoffatmung und Ansammlung von Flüssigkeiten in den Vacuolen.

Trotz starker Trans- bzw. Exsudation in die Alveolarräume, die wir in unseren früheren Mitteilungen beschrieben haben, fanden wir keine Unterbrechungen der

Basalmembran an den Alveolarepithelien und den Capillaren. MEESEN und SCHULZ (1956) haben aber gezeigt, daß eine Transudation aus den Capillaren auch bei morphologisch intakten Basalmembranen möglich ist.

Die Bildung von Atelektasen, die bei der Lichtmikroskopie besonders deutlich ist, beruht auf der Faltung der Alveolarsepten und Verdickung der Alveolarzellen und Bildung der kubischen Epithelform, wieweit diese Veränderung nur auf die Störung der Capillarpermeabilität nach Bildung des interstitiellen oder intercellulären Ödems beruht oder auch durch Änderung der oberflächenaktiven Substanzen in der Lunge (COLLIER, 1963) ausgelöst wird, kann nicht endgültig entschieden werden. Uns scheint die Gefäßwand der Hauptangriffspunkt des hyperbaren Sauerstoffs in der Lunge zu sein.

Zusammenfassung

Unter der Einwirkung von hyperbarem Sauerstoff (1—3 atü) treten an der Rattenlunge nach 2—6 Std Atelektasen sowie ein interstitielles und schließlich auch ein intraalveoläres Ödem auf, wobei das Ausmaß der pathologischen Änderung von der Dauer und dem Sauerstoffdruck abhängt. Schwellung und Vacuolisierung der Endothelzellen verschließen die Capillaren und führen so zur präcapillären Stase. Die Faltung der Alveolarsepten und Zellschwellungen, die z.T. mit Schwellung der Mitochondrien einhergehen, führen zu Atelektasen. Während bei 1 und 2 atü Sauerstoffdruck die Verdickung der Alveolarwände und Zunahme des interstitiellen Raumes im Vordergrund stehen, dominiert bei 3 atü bereits nach 2 Std die starke Ex- bzw. Transudation in den Alveolarräumen. Degenerative endoplasmatische Reticulum-Veränderungen der Fibrocyten und Nischenzellen sowie Makrophagen findet man erst bei 2 und 3 atü.

Light and Electron-Microscopic Studies of Structural Changes in the Lung of the Rat Exposed to Hyperbaric Oxygen

Summary

After two to six hours of hyperbaric oxygen (2—4 atm.), the rat lung shows atelectasis and an interstitial edema, and finally an intra-alveolar edema. These changes depend on the exposure time and the oxygen pressure. Swelling and vacuolization of the endothelial cells occludes the capillaries and leads to pre-capillary stasis. The plication of alveolar walls and the swelling of the cells, accompanied in part by swelling of the mitochondria, lead to atelectasis. With two and three atm. of oxygen the thickening of the alveolar wall and the increase in the interstitial space become prominent, whereas with four atm. for only two hours the exudation and transudation into the alveolar spaces predominate. Degenerative changes of the endoplasmic reticulum of fibrocytes, alveolar recess-cells, and macrophages are first found at three to four atm.

Literatur

- BEAN, J. W.: Factors influencing clinical oxygen toxicity. Ann. N.Y. Acad. Sci. **117**, 745 (1965).
BERFENSTAM, R., T. EDLUND, and L. ZETTERGREN: Några synpunkter på de hyalina lung-membranernas patogenes. Nord. Med. **52**, 1132 (1954).

- BERGOFSKY, E. H., and P. BERTUN: Response of regional circulations to hyperoxia. *J. appl. Physiol.* **21**, 567 (1966).
- BERNE, R. M.: Metabolic regulation of blood flow. *Circulat. Res.* **14/15**, Suppl. I, 261 (1964).
- CARRIER, O., J. R. WALKER, and A. C. V. GUYTON: Role of oxygen in local autoregulation of blood flow in isolated vessels. *Amer. J. Physiol.* **206**, 951 (1964).
- CEDERGREN, B., L. GYLLENSTEN, and J. WERSÄLL: Hyaline membranes. *Lancet* **1958** I, 945.
- COLLIER, C. B.: Pulmonary surface activity in O_2 -poisoning. *Fed. Proc.* **22**, 339 (1963).
- GUYTON, A. C., J. M. ROSS, O. CARRIER, and J. R. WALKER: Evidence for tissue oxygen demand as the major factor causing autoregulation. *Circulat. Res.* **14/15**, Suppl. I, 61 (1964).
- JACOBSON, I., A. M. HARPER, and D. G. McDOWELL: The effect of oxygen at 1 and 2 atmospheres on the blood flow and oxygen uptake of the cerebral cortex. *Surg. Gynec. Obstet.* **119**, 737 (1964).
- LAMBERTSEN, C. J., R. H. KOUGH, D. Y. COOPER, G. L. EMMEL, H. H. LOESCHKE, and C. F. SCHMIDT: Oxygen toxicity. Effects in man of oxygen inhalation at 1 and 3,5 atmospheres upon blood gas transport, cerebral circulation and cerebral metabolism. *J. appl. Physiol.* **5**, 471 (1953).
- MARECHAUX, E. W.: Über die Wirkung von sauerstofferhöhtem Teildruck auf lungenschädigte Tiere. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak.* **201**, 213 (1943).
- MEESSEN, H., u. H. SCHULZ: Elektronenmikroskopische Untersuchungen des experimentellen Lungenoedems. *Bad Oeynhausener Gespräche* Bd. I, S. 54. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- NASSERI, M., H. KIRSTAEDTER u. E. S. BÜCHERL: Experimentelle Untersuchungen über das Allgemeinverhalten und die morphologischen Veränderungen unter hohem Sauerstoffdruck. *Virchows Arch. path. Anat.* **341**, 148 (1966).
- PICHOTKA, J.: Über die histologischen Veränderungen der Lunge nach Atmung von hochkonzentriertem Sauerstoff im Experiment. *Beitr. path. Anat.* **105**, 381 (1941).
- RENNIE, D. W., and F. G. KNOX: Effects of oxygen at high ambient pressure on blood flow and O_2 -consumption of the kidney. *J. appl. Physiol.* **19**, 1095 (1964).
- SCHULZ, H.: Die Pathologie der Mitochondrien im Alveolarepithel der Lunge. *Beitr. path. Anat.* **119**, 45 (1958).
- Die submikroskopische Anatomie und Pathologie der Lunge. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- TAPLEY, D. F.: Effects of thyroxin and other substances on the swelling of isolated rat liver mitochondria. *J. biol. Chem.* **222**, 325 (1956).

Dr. M. NASSERI:
und Prof. Dr. med. E. S. BÜCHERL
Chirurgische Klinik
der Städtischen Krankenanstalten
Neukölln
1 Berlin 47, Rudower Straße 56

Dr. J. WOLF:
Forschungsabteilung
für Elektronenmikroskopie
der Freien Universität Berlin
1 Berlin 33, Königin-Luise-Straße 3