

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ БРОНХОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Елена Андреевна ГЕРЕНГ, Ирина Владимировна СУХОДОЛО, Раиса Ивановна ПЛЕШКО, Людмила Михайловна ОГОРОДОВА, Екатерина Борисовна БУКРЕЕВА, Ольга Владимировна КОЗИНА, Полина Александровна СЕЛИВАНОВА, Анна Николаевна ДЗЮМАН, Иван Сергеевич КРЕМИС

ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава,
634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Целью исследования явилась оценка роли тканевых и клеточных структур в ремоделировании слизистой оболочки бронхов у больных с тяжелым течением хронической обструктивной болезни легких и терапевтически-чувствительной бронхиальной астмы. С помощью гистологических и морфометрических методов установлено, что тяжелое течение обструктивной болезни легких сопровождалось формированием нейтрофильного типа воспаления в бронхиальном дереве с развитием плоскоклеточной метаплазии и базальноклеточной гиперплазии эпителиального пласта с последующим фиброзом собственной пластинки слизистой оболочки. При бронхиальной астме в биоптатах слизистой оболочки бронхов констатировалось увеличение общего числа иммунокомпетентных клеток, утолщение базальной мембраны и выраженная бокаловидноклеточная гиперплазия.

Ключевые слова: тканевые, клеточные маркеры; ремоделирование бронхов.

С ростом распространенности заболеваний органов дыхания особое значение приобретает исследование болезней, протекающих с нарушением проходимости воздухоносных путей — хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмы (БА) [1, 2]. Несмотря на многочисленные исследования вопросы патоморфоза тяжелых форм этих недугов остаются до конца невыясненными [2]. В этой связи особую актуальность приобретает морфологическое исследование слизистой оболочки бронхов, способное обеспечить диагностику типа воспаления, прогноз течения ХОБЛ и БА.

Цель работы заключается в оценке структурно-функциональных изменений слизистой оболочки бронхов и их значения в диагностике ХОБЛ и БА.

Материал и методы

Обследованы 25 пациентов обоего пола с тяжелым течением ХОБЛ и БА, в возрасте от 34 до 65 лет (в среднем $48,3 \pm 3,09$ лет). Данное исследование одобрено локальным комитетом по этике ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава г. Томска (протокол № 877 от 10.11.2008). Диа-

гноз и тяжесть заболеваний оценивали согласно критериям глобальной стратегии лечения и профилактики ХОБЛ и БА (GINA, GOLD, 2006). Длительность болезни составила $13,5 \pm 3,8$ лет. У пациентов с ХОБЛ были следующие условия для включения в исследование: активное курение более 20 пачка/лет; объем форсированного выдоха ($ОФВ_1$) — $45,7 \pm 3,95\%$; индекс Тиффно (отношение $ОФВ_1$ к форсированной жизненной емкости легких) — $58,9 \pm 5,53\%$; наличие эмфиземы легких, диагностированной рентгенологически или томографически. Больные с тяжелой терапевтически-чувствительной формой БА соответствовали следующим критериям: положительные результаты кожных аллергопроб; уровень сывороточного IgE более 250 МЕ/мл; $ОФВ_1$ — $71,3 \pm 3,4\%$; обратимость бронхиальной обструкции после ингаляции бронхолитика ($\Delta ОФВ_1$) — $38,1 \pm 3,4\%$; пиковая скорость выдоха — $76,4 \pm 2,8\%$; суточная лабильность бронхов — $30,2 \pm 1,9\%$.

Биоптаты из среднедолевого бронха правого легкого забирали во время фибробронхоскопического исследования. Материал фиксировали в 10% забуференном формалине,

Геренг Е.А. — канд.м.н., доцент каф. морфологии, e-mail: e-gereng@mail.ru

Суходоло И.В. — д.м.н., зав. каф. морфологии, профессор

Плешко Р.И. — д.м.н., проф. каф. морфологии

Огородова Л.М. — д.м.н., проф., член-корр. РАМН, заслуженный деятель науки, зав. каф. факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета

Букреева Е.Б. — д.м.н., проф. каф. внутренних болезней педиатрического факультета

Селиванова П.А. — ассистент каф. факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета

Козина О.В. — канд.м.н., доцент кафедры иммунологии

Дзюман А.Н. — канд.м.н., доцент каф. морфологии

Кремис И.С. — врач пульмонологического отделения

обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин по стандартной методике. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону [3].

Исследование осуществляли с использованием компьютерной программы ImageJ 3.16, плагин Grid, Cell, Counter. В бронхиобиоптатах оценивали следующие морфометрические показатели: объемную плотность покровного эпителия и отдельных клеточных форм ($\text{мм}^3/\text{см}^3$), относительный объем соединительной ткани и желез (%), с помощью окуляр-микрометра измеряли высоту покровного эпителия, толщину базальной мембраны (мкм). В 1 мм^2 собственной пластинки слизистой оболочки определяли плотность воспалительного инфильтрата и различных клеточных популяций (лимфоцитов, макрофагов, нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов), общее число межэпителиальных эозинофилов, нейтрофилов и лимфоцитов.

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ Statistica for Windows 6.0. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое значение, m — ошибка среднего арифметического значения. Данные анализировали с использованием непараметрического критерия Манна—Уитни. Оценку взаимосвязи между различными морфометрическими параметрами осуществляли с помощью коэффициента корреляции Спирмена [4].

Результаты и обсуждение

У всех пациентов с тяжелой формой ХОБЛ и БА бронхоскопическая картина укладывалась в рамки нисходящего диф-

фузного катарального (32%), атрофического (20%) и склеротического (48%) эндо-бронхита. У пациентов с БА в просвете бронхов определялось большое количество мутной, вязкой, труднодренируемой мокроты и диагностировалась дистония трахеи, главных и среднедолевых бронхов.

При морфометрическом исследовании бронхиобиоптатов у пациентов с ХОБЛ установлено увеличение объемной плотности покровного эпителия и базальных эпителиоцитов (табл.). При тяжелой форме БА в биоптатах слизистой оболочки бронхов выявлено увеличение объемной плотности бокаловидных клеток. В собственной пластинке слизистой и подслизистой оболочек бронхов у больных ХОБЛ обнаружено преобладание соединительной ткани над железистой. У пациентов с тяжелой формой БА отмечалось увеличение относительного объема желез. Плотность инфильтрата в бронхиобиоптатах слизистой оболочки бронхов у больных ХОБЛ была достоверно ($p < 0,01$) выше, чем при тяжелой форме БА, и в нем определялись, в основном, макрофагальные элементы и нейтрофильные гранулоциты (рис. 1). Тяжелая форма астмы характеризовалась возрастанием в инфильтрате общего количества эозинофилов, лимфоцитов, плазматических клеток (рис. 2).

Механизмы развития воспаления при ХОБЛ и астме имеют, по-видимому, различный характер, что отражается в особенностях ремоделирования слизистой оболочки бронхов. Важным причинно-значимым фактором

Таблица

Морфометрические показатели слизистой оболочки бронхов у больных с тяжелым течением хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы ($M \pm m$)

Исследуемый параметр	Хроническая обструктивная болезнь легких, $n = 15$	Бронхиальная астма, $n = 10$
Объемная плотность всего покровного эпителия, $\text{мм}^3/\text{см}^3$	$406,72 \pm 21,74$	$240,54 \pm 11,42^*$
Объемная плотность реснитчатых эпителиоцитов, $\text{мм}^3/\text{см}^3$	$265,32 \pm 16,17$	$125,65 \pm 4,96^*$
Объемная плотность бокаловидных эпителиоцитов, $\text{мм}^3/\text{см}^3$	$65,30 \pm 4,85$	$86,00 \pm 5,17^*$
Объемная плотность базальных эпителиоцитов, $\text{мм}^3/\text{см}^3$	$85,60 \pm 5,51$	$42,30 \pm 4,17^*$
Относительный объем желез, %	$17,31 \pm 4,62$	$40,23 \pm 4,25^*$
Относительный объем соединительной ткани, %	$84,31 \pm 1,48$	$63,32 \pm 3,52^*$
Высота эпителиального пласта, мкм	$86,69 \pm 4,92$	$32,52 \pm 3,97$
Толщина базальной мембраны, мкм	$6,52 \pm 4,59$	$17,54 \pm 4,52^*$

Примечание: n — количество пациентов; * — различия статистически значимы ($p < 0,01$) при сравнении показателей у пациентов с тяжелой формой хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы.

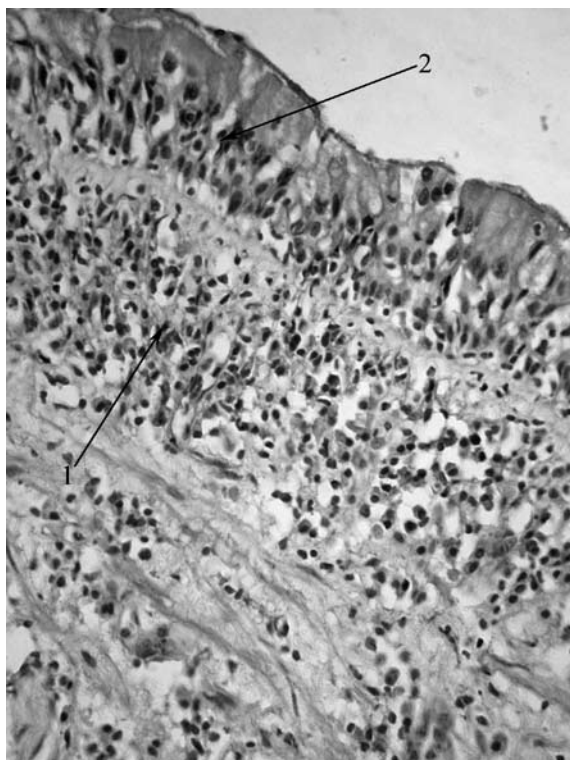


Рис. 1. Биоптат слизистой оболочки бронхов пациента Ф. с хронической обструктивной болезнью легких. Субэпителиальный полиморфноклеточный инфильтрат (1), интраэпителиальные гранулоциты (2). Окраска гематоксилином и эозином *420.

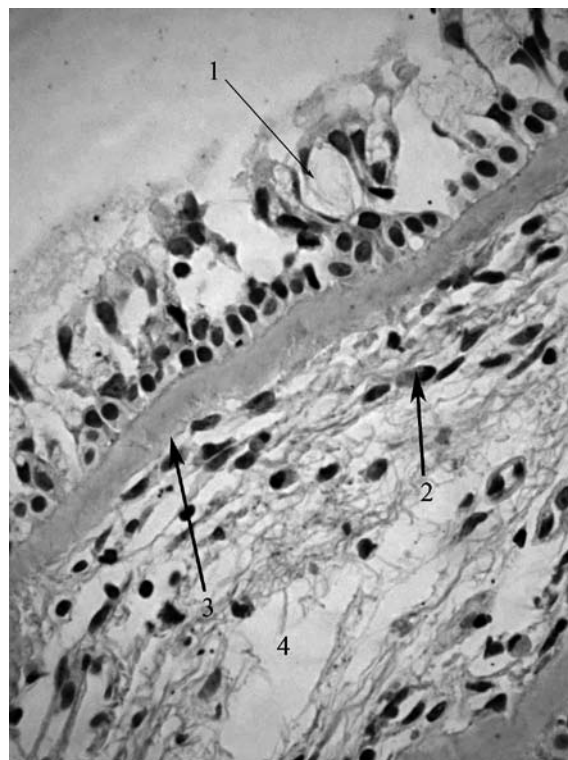


Рис. 2. Слизистая оболочка бронхов пациентки С. с тяжелой формой бронхиальной астмы. Бокаловидноклеточная гиперплазия (1), единичные эозинофильные гранулоциты (2) выраженное утолщение базальной мембраны (3). Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону *540.

развития ХОБЛ у исследованных пациентов является курение. Установлено, что табачный дым стимулирует выработку макрофагами и эпителиальными клетками фактора некроза опухоли α , который усиливает выброс интерлейкина-8 и лейкотриена В4. В свою очередь, эти воспалительные медиаторы относятся к мощным селективным хемоаттрактантам и активаторам нейтрофилов. Последние секретируют различные протеиназы, включая нейтрофильную эластазу, нейтрофильный катепсин G и т.д., играющие важную роль в процессе паренхиматозной деструкции, развивающейся при ХОБЛ [5–7]. Вероятно, взаимодействие между макрофагами и нейтрофилами при ХОБЛ нашло свое отражение в повышении общего числа этих клеток как в собственной пластинке слизистой оболочки бронхов, так и внутри эпителиального пласта.

Нейтрофильный тип воспаления, реализующийся в условиях данной патологии, инициирует оксидативный стресс, который способен приводить к дисфункции, цито-

лизу и апоптозу эпителиальных клеток [8,9]. У больных ХОБЛ эти процессы сопровождаются развитием плоскоклеточной метаплазии и базальноклеточной пролиферации эпителиального пласта с возрастанием в бронхобиоптатах объемной плотности эпителиального пласта в бронхобиоптатах. Эти дисрегуляторные изменения играют значимую роль в развитие необратимой бронхиальной обструкции, что отражается в обнаруженной нами отрицательной корреляционной связи между высотой эпителиального пласта и индексом Тиффно ($r = -0,67$, $p = 0,0006$). Данные нарушения сопровождаются изменением барьерных и иммунных функций слизистой оболочки бронхов, вызывая дальнейшую хронизацию воспаления с формированием тяжелой формы болезни [5, 9, 10]. Длительное воздействие этиопатогенетических факторов у пациентов с ХОБЛ приводит к изменению свойств и нарушению экстрацеллюлярного матрикса собственной пластинки слизистой оболочки с последующим развитием субэпителиального фиброза с увеличением доли

соединительной ткани в слизистой оболочке бронхов при ХОБЛ. Такое структурное ремоделирование связано с усилением функциональной активности макрофагов по наработке фактора роста фибробластов, который активизирует и стимулирует фиброгенез. Интересно, что у пациентов с ХОБЛ такое взаимодействие отражается в положительной корреляции между плотностью макрофагов в собственной пластинке слизистой оболочки и относительным объемом соединительной ткани ($r = 0,56$, $p = 0,0009$).

При БА воспалительные изменения в слизистой оболочке бронхов носят аллергический характер. Это проявляется в увеличении общего числа эозинофилов, лимфоцитов и плазматических клеток в собственной пластинке слизистой оболочки. Эозинофилы играют важную роль в выработке «фибриногенных» ростовых факторов, которые стимулируют функциональную активность фибробластов, нарабатывающих коллагены I, III, IV и VIII типов [11, 12]. Коллагены откладываются в базальной мембране, вызывая ее утолщение, что наблюдается нами в биоптатах слизистой оболочки бронхов у пациентов с тяжелой формой БА. Этот факт нашел свое отражение и в корреляционной взаимосвязи между плотностью эозинофилов и толщиной базальной мембраны. Важно отметить, что при БА, в отличие от ХОБЛ, значимая роль в формировании бронхообструктивного синдрома принадлежит бокаловидным клеткам. Гиперсекреция слизи, обусловленная как увеличением количества бокаловидных клеток, так и расширением концевых отделов белково-слизистых желез, приводит к обструкции бронхов, формируя блокаду дыхательной проходимости, сопровождающуюся развитием приступов удушья.

Заключение

Воспаление и структурно-функциональные изменения, развивающиеся в бронхах при ХОБЛ и БА, имеют различные морфологические фенотипы. Доминирующими процессами в бронхиальной стенке больных ХОБЛ являются хроническое продуктивное воспаление, обусловленное курением и инфекционными агентами, и реакции на повреждение поверхностного эпителия в виде пролиферации базальных клеток и плоскоклеточной метаплазии. Для астмы характерно персистирующее аллергическое воспаление с интен-

сивной инфильтрацией слизистой оболочки эффекторными клетками. Возникающая при этом бокаловидноклеточная гиперплазия становится важной причиной усиленного слизеобразования с формированием бронхообструктивного синдрома.

Литература

1. Фисенко В., Чичкова Н. Ремоделирование при бронхиальной астме: принципы формирования и возможности фармакологического воздействия // Врач. 2006. (12). 14–20.
2. Fisenko V., Hechkova N. Airway remodeling in asthma: therapeutical implications of mechanisms // Vrach. 2006. (12). 14–20.
3. Непомнящих Г.И. Биопсия бронхов: морфогенез общепатологических процессов в легких. М., 2005. 384 с.
4. Nepomnyashchyh G.I. Bronchial biopsy: morphogenesis of general pathologic processes in the lungs. М., 2005. 384 p.
5. Автандилов Г.Г. Диагностическая медицинская пloidометрия М.: Медицина, 2006. 192 с.
6. Avtandilov G.G. Diagnostic medical ploidometry М.: Meditsina, 2006. 192 p.
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA. М., 2002. 305 с.
8. Rebrova O.Yu. Statistic analysis of medical data. Application of applied programs STATISTICA. М., 2002. 305 p.
9. Boulet L.P., Sterk P.J. Airway remodelling: the future // Eur. Respir. J. 2007. 30. 831–834.
10. Sundy J.S., Hauswirth D.W., Mervin-Blake S. et al. Smoking is associated with an age-related decline in exhaled nitric oxide // Eur. Respir. J. 2007. 30. 1074–1081.
11. Gualano R.C., Vlahos R., Anderson G.P. et al. What is the contribution of respiratory viruses and lung proteases to airway remodeling in asthma and chronic obstructive pulmonary disease // Pulm. Pharmacol. Ther. 2006. 19. 18–23.
12. Esther C.R., Alexis N.E., Clas M.L. et al. Extracellular purines are biomarkers of neutrophilic airway inflammation // Eur. Respir. J. 2008. 31. 949–956.
13. Drakopanagiotakis F., Xifteri A., Polychronopoulos V. et al. Apoptosis in lung injury and fibrosis // Eur. Respir. J. 2008. 32. 1631–1638.
14. Kariyawasam H.H., Robinson D.S. Airway remodeling in asthma: models and supermodels // Clin. Exp. Allergy. 2005. 35. 117–121.
15. Kay A.B., Phipps S., Robinson D.S. et al. A role for eosinophils in airway remodeling in asthma // Trends Immunol. 2004. 25. 477–482.
16. Reuter S., Heinz A., Sieren M. et al. Mast cell-derived tumour necrosis factor is essential for allergic airway disease // Eur. Respir. J. 2008. 31. 773–782.

STRUCTUR-FUNCTIONAL CHANGES IN A MUCOUS MEMBRANE OF BRONCHIAL TUBES AT CHRONIC INFLAMMATORY DISEASES

Elena Andreevna GERENG, Irina Vladimirovna SUHODOLO, Raisa Ivanovna PLESHKO, Lyudmila Mihajlovna OGORODOVA, Ekaterina Borisovna BUKREEVA, Olga Vladimirovna KOZINA, Anna Nikolaevna DZJUMAN, Ivan Sergeevich KREMIS

*Department of morphology Siberian State Medical University
2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050*

The purpose of research was the estimation of a role of fabric and cellular structures in development remodelling a mucous membrane of bronchial tubes at patients with heavy current of chronic obstructive pulmonary disease and a severe asthma. By means of histologic and morphometric analysis it is established, that heavy current of chronic obstructive pulmonary disease was accompanied by formation neutrophilic type of an inflammation in a bronchial tree with development squamous metaplasia and basal cell hyperplasia of bronchial epithelium a layer with the subsequent development fibrosis own plate of a mucous membrane. At a bronchial asthma in endobronchial biopsy a mucous membrane of bronchial tubes the increase in the general number inflammation cells, a thickening lamina propria and expressed gland hyperplasia was ascertained.

Keywords: fabric, cellular markers, airway remodelling bronchial tubes.

Gereng E.A. — *Candidate of Medicine, assistant professor department of morphology, e-mail: e-gereng@mail.ru*

Suhodolo I.V. — *Doctor of Medicine, the managing department of morphology*

Ogorodova L.M. — *Doctor of Medicine, the professor, a member of correspondent of Russian Academy of Medical Science, the honored worker of a science, managing faculty of faculty pediatrics with a rate of children's illnesses of medical faculty*

Bukreeva E.B. — *Doctor of Medicine, the professor of faculty of internal illnesses of pediatric faculty*

Selivanova P.A. — *The assistant to faculty of faculty pediatrics with a rate of children's illnesses of medical faculty*

Kozina O.V. — *Candidate of Medicine, assistant proffessor department immunology*

Dzjuman A.N. — *Candidate of Medicine, assistant professor department morphology*

Kremis I.S. — *Doctor of Pylmonology branches*