

УДК 611.233-018.25:616.24-002

С. В. Коваленко
А. Е. Дорофєєв¹
І. С. Давиденко
І. В. Василенко¹

Буковинський державний медичний університет, ¹Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ БРОНХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВАРІАНТУ ЗАГОСТРЕННЯ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

Ключові слова: хронічне обструктивне захворювання легень, морфологія, слизові бар'єри, інфекційне загострення.

Резюме. У статті наводяться дані власних досліджень особливостей морфологічних змін слизової оболонки бронхів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) під час загострення. Встановлено поглиблення явищ альтерації та запалення стінок бронхів при інфекційному загостренні ХОЗЛ з посиленням склеротичних явищ у стромі бронхів та порушенням слизоутворення за рахунок зменшення продукції слизу епітеліоцитами слизових залоз та келихоподібними клітинами, що сприяє бактеріальній адгезії, порушенню функціонування та цілісності слизових бар'єрів бронхів.

Вступ

Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) розглядається, як самостійне постійно прогресуюче захворювання дихальних шляхів (ДШ), спровоковане аномальною запальною реакцією тканин легень, що супроводжується розвитком обмеження повітряного потоку, незворотного компонента бронхіальної обструкції та дихальної недостатності [3]. На сьогодні, у розвитку патологічного процесу при ХОЗЛ виділяють зміни слизових оболонок бронхів з порушенням функції секреторного апарату, інфекційного компонента, порушення співвідношення протеолітичних ферментів та антипротеаз, дефектів антиоксидантного захисту легень тощо [1,2,4]. Проте, мало уваги надається ролі гістопатологічних змін слизових бар'єрів, які є першим «щеленом» захисту від аерополітантів та патогенів мікроорганізмів (МО), у реалізації адаптаційних реакцій при загостренні ХОЗЛ і їх значення у прогресуванні захворювання з розвитком стійкої бронхіальної обструкції внаслідок ремоделювання і фіброзних змін бронхів [8].

Мета дослідження

Провести комплексне вивчення морфологічних змін слизової оболонки (СО) бронхів при загостренні ХОЗЛ.

Матеріал і методи

Проведений аналіз 30 історій хвороби хворих із загостренням ХОЗЛ, які знаходилися на стаціонарному лікуванні у пульмонологічному відділенні обласної клінічної лікарні (ОКЛ) м. Чернівці. З метою визначення ступеня та характеру запалення бронхів хворим проводили фібробронхоскопію (ФБС) за допомогою фібробронхоскопа Olympus та виконували прижиттєву біопсію СО бронхів. Про-

токол обстеження хворих був затверджений на спільному засіданні локальної комісії з біоетики ОКЛ та кафедри внутрішньої медицини Буковинського державного медичного університету. Протокол складений відповідно до основних принципів Гельсінської декларації по біомедичним дослідженням (1974), адаптованої на 41-й Міжнародній асамблеї у Гонконзі (вересень, 1989 р.), в яких людина виступає їх об'єктом.

За загальноприйнятою методикою проводили біопсію СО бронхів. Висікався шматочок тканини, що містив лише слизову та підслизову оболонку, не травмуючи хрящові кільця. Свіжий матеріал фіксували протягом 22 годин в нейтральному забуференому 10% водному розчині формаліну за Р. Ліллі, після чого здійснювали зневоднювання у висхідній батареї етанолу і заливку в парафін. З парафінових блоків на санному мікроскопі виготовляли зрізи товщиною 5 мкм. Мікроскопічними методами при ХОЗЛ вивчали морфологічний стан наступних структур: у бронхах різного калібру – покривний епітелій бронхів, епітелій слизових залоз, стромальний компонент стінки бронха, у легеневій тканині – альвеолярний епітелій та епітелій респіраторних бронхіол, кровоносні судини та периваскулярну тканину, інтерстицій міжальвеолярних перетинок.

Для оцінки стану зазначених структур застосовані наступні мікроскопічні методи: оглядове забарвлення гематоксиліном і еозином, забарвлення пікрофуксином за методом ван Гізона для вивчення зрілих колагенових волокон, забарвлення альціановим синім за Стідменом на кислі глікозаміноглікани, PAS-реакція на полісахариди та глікопротеїни.

Інтенсивність забарвлення (оптична густина) оцінена об'єктивно на цифрових копіях оптичних зображень мікропрепаратів за допомогою методу

комп'ютерної мікроденситометрії у середовищі графічної комп'ютерної програми GIMP, версія 2,82 (ліцензія GPL) зондовим способом у градаціях інтенсивності забарвлення (від 0 до 255) із логарифмічним перерахунком в умовні одиниці оптичної густини (ум.од.опт.густини) із градацією від «0» (абсолютна прозорість) до «1» (абсолютна непрозорість).

Обстежені хворі були розподілені на 2 групи: I група - хворі на ХОЗЛ III стадії без ознак інфекційного загострення – 14 пацієнтів та II група - 16 осіб, хворі на ХОЗЛ III стадії та ознаками інфекційного загострення I типу за Антонісенем [5,6].

Обговорення результатів дослідження

За результатами наших досліджень у бронхах різного калібру хворих I групи відмічено дрібні осередки переривчастої денудації покривного епітелію, переважно за рахунок його десквамації (рис. 1), які займають у середньому $4,8 \pm 0,81\%$ площі епітеліальної поверхні (табл. 1), та ділянки епітеліальної проліферації, яка проявляє себе нерівномірним накопиченням незрілих клітин – найбільш виражено навколо місць групової відсутності зрілих епітеліоцитів на поверхні слизової оболонки бронхів.

У бронхах хворих I групи має місце зниження висоти більшості недесквамованих епітеліоцитів поверхні слизової оболонки бронхів в основному за рахунок відторгнення апікальної частини їх цитоплазми.

В усіх препаратах відмічено потовщення субепітеліальної базальної мембрани (під покривним епітелієм), що видно при застосуванні методик з фарбуванням пікрофуксином за методом ван-Гізона та при PAS-реакції.

У хворих на ХОЗЛ I групи в слизових залозах мала місце гіперплазія епітеліоцитів (рис. 2), що видно за дво- або навіть триразовим збільшенням числа залозистих структур і за питомим об'ємом залоз стінок бронхів у порівнянні з умовною нормою (табл. 1).

При дослідженні препаратів, які зафарбовували пікрофуксином за методом ван-Гізона, при визначенні питомого об'єму зрілих колагенових волокон строми за їх червоним забарвленням, виявлено високі середні цифри цього показника (табл. 1), що є морфометричним доказом розвитку склеротичних явищ у стінці бронхів. Склероз був більше вираженим периваскулярно та в місцях під полями злушеного епітелію.

Розвиток запалення оцінювали, як з точки зору локалізації, так і питомого об'єму запального інфільтрату в межах строми бронха, а також за деякими параметрами клітинного складу. Зокрема, виявлено, що у хворих на ХОЗЛ I групи запальна інфільтрація локалізується переважно під покривним епітелієм бронха, при цьому інфільтрати переважно круглоклітинні (тобто домінують

лімфоїдні клітини та присутні моноцитарні форми). Кількісні показники наведені в таблиці 1. Запальний процес також характеризував показник питомого об'єму судин мікроциркуляторного русла строми, який є більш інформативним при знятті даних під покривним епітелієм (табл. 1). Наведені показники свідчать про помірне повнокрів'я мікроциркуляторного русла стінки бронха у хворих на ХОЗЛ I групи, яке більше виражено в стромі під покривним епітелієм (рис. 1). Повнокрів'я подекуди супроводжувалося дрібними периваскулярними діapedезними крововиливами (рис. 1).

Гістохімічні методи дозволили уточнити властивості слизу в різних структурах бронха, а кількісні дані щодо таких досліджень на основі комп'ютерної мікроденситометрії наведені в таблиці 2.

Зокрема, встановлено наступне, при PAS-реакції відзначається вузька, з поодинокими потовщеннями, смужка секрету на поверхні покривного епітелію, яка має переривчастий характер. Оптична густина забарвлення даної смужки значно коливається в різних ділянках від 0,082 до 0,205 ум. од. опт. густини, а в середньому становить $0,104 \pm 0,012$ ум. од. опт. густини.

У слизових залозах інтенсивність специфічного забарвлення цитоплазми клітин при PAS-реакції (рис. 2) та при використанні методики з альціановим синім за Стідменом (рис. 3), значно варіює від залози до залози. Зокрема, при PAS-реакції оптична густина забарвлення в середньому обрахована у $0,148 \pm 0,022$ ум.од.опт.густини, а при використанні забарвлення альціановим синім за Стідменом, оптична густина забарвлення коливається від 0,094 до 0,212 ум.од.опт.густини (виразніше в протоках), а в середньому становить $0,164 \pm 0,019$ ум.од.опт.густини.

Окрім того, виміряна оптична густина забарвлення в келихоподібних клітинах при PAS-реакції та при забарвленні альціановим синім за Стідменом (рис. 4). Середні цифри були близькими до норми (табл. 2).

У хворих з інфекційним загостренням ХОЗЛ відмічені більш виражені альтеративні явища в покривному епітелії бронхів середнього та великого калібрів, ніж у хворих без інфекційного загострення. Зокрема, поля денудації (десквамації) покривного епітелію займали від 24% до 100% із середніми цифрами $47,4 \pm 1,48\%$. Подекуди траплялися гострі ерозії, іноді – виразки. Біля полів десквамації, ерозій та виразок нерівномірно виражені явища проліферації епітеліоцитів.

Відмічається зниження висоти всіх недесквамованих епітеліоцитів за рахунок відторгнення апікальної частини цитоплазми. У хворих на ХОЗЛ II групи встановлено ще більше потовщення базальної мембрани під покривним епітелієм

Таблиця 1

Морфометричні показники стану бронхів у хворих на ХОЗЛ I та II груп ($X \pm s_x$)

| Показники | I група хворих (n=14) | II група хворих (n=16) | Вірогідність розбіжностей (P) у середніх тенденціях за методом Mann-Whitney |
|---|-----------------------|------------------------|---|
| Відсоток площі денудації покривного епітелію (%) | 4,8±0,21 | 46,1±4,92 | P<0,001 |
| Товщина субепітеліальної базальної мембрани (мкм) – PAS-реакція | 2,1±0,19 | 2,9±0,22 | P<0,05 |
| Питомий об'єм залоз у стінці бронха (%) | 42,2±1,17 | 47,4±1,48 | P<0,05 |
| Питомий об'єм зрілих колагенових волокон строми (%) – методика забарвлення за ван-Гізон | 23,2±1,47 | 27,8±1,62 | P<0,05 |
| Питомий об'єм запального інфільтрату строми під покривним епітелієм (%) | 42,0±2,19 | 49,2±2,24 | P<0,05 |
| Питомий об'єм запального інфільтрату в цілому по строми (%) | 8,4±0,18 | 39,8±1,39 | P<0,001 |
| Відсоток поліморфноядерних лейкоцитів у запальних інфільтратах (%) | 2,9±0,09 | 49±4,05 | P<0,001 |
| Питомий об'єм судин мікроциркуляторного русла строми під покривним епітелієм (%) | 14,2±0,64 | 26±1,42 | P<0,001 |

Таблиця 2

Оптична густина (в умовних одиницях) специфічного забарвлення структур бронхів на ХОЗЛ I та II груп при застосуванні гістохімічних методик на властивості слизу ($X \pm s_x$)

| Гістохімічна методика / локалізація | I група хворих (n=14) | II група хворих (n=16) | Вірогідність розбіжностей (P) у середніх тенденціях за методом Mann-Whitney |
|--|-----------------------|------------------------|---|
| PAS-реакція / смужка слизового секрету на поверхні покривного епітелію | 0,104±0,012 | Не визначається | P не обраховано |
| PAS-реакція / келихоподібні клітини | 0,206±0,014 | 0,111±0,010 | P<0,001 |
| PAS-реакція / клітини слизових залоз | 0,148±0,022 | 0,092±0,009 | P<0,05 |
| Альціановий синій за Стідменом/ келихоподібні клітини | 0,128±0,012 | 0,085±0,010 | P<0,05 |
| Альціановий синій за Стідменом/ клітини слизових залоз | 0,164±0,019 | 0,089±0,012 | P<0,05 |

(табл. 1). Також спостерігається статистично вірогідне збільшення питомого об'єму залоз у стінці бронха (табл. 1) та колагенових волокон строми бронха.

Характеризуючи запальний процес у хворих на ХОЗЛ II групи у стінці бронха, необхідно вказати на те, що запалення було більш вираженим, зокрема воно поширювалося на більш глибокі шари бронха (рис.5), при цьому і під епітелієм зростала щільність запального інфільтрату та його питомий об'єм (табл. 1). Одночасно різко мінялося співвідношення клітин запального інфільтрату, зокрема, значно переважали поліморфноядерні лейкоцити, що вказувало на інфекційне загострення запального процесу. На користь більш вираженого

загострення запального процесу в стінці бронхів вказувало більш виражене повнокрів'я, що видно за зростанням питомого об'єму судин мікроциркуляторного русла строми), найбільше виражене під покривним епітелієм (табл. 1).

При PAS-реакції смужка секрету на більшій площі поверхні покривного епітелію не визначалася. Відповідно, не було достатньо даних для статистично правильного визначення оптичної густини забарвлення цієї смужки.

У хворих із інфекційним загостренням ХОЗЛ у клітинах слизових залоз бронхів при використанні метода з альціановим синім за Стідменом та при PAS-реакції, забарвлення також сильно варіювало від залози

до залози, але у цілому було нижчим, ніж у хворих на ХОЗЛ без інфекційного загострення (табл. 2).

Також слід відмітити різке зниження PAS-реакції та інтенсивності забарвлення альціановим синім келихоподібних клітин (табл. 2).

Таким чином, спільними морфологічними особливостями ХОЗЛ у пацієнтів обох груп можна вважати наступні морфометричні зміни: виражені прояви денудації (десквамації) покривного епітелію, збільшення товщини субепітеліальної базальної мембрани, питомого об'єму: залоз у стінці бронха, запального інфільтрату під покривним епітелієм та в цілому по стромі, судин мікроциркуляторного русла стромі під покривним епітелієм, зрілих колагенових волокон стромі та появу поліморфноядерних лейкоцитів. Всі вищепераховані зміни більш виражені у хворих II групи. Так, % площі денудації епітелію у хворих II гр. на 41,3% більше ніж у хворих без ознак інфекційного загострення; зростає питомий об'єм залоз у стінці бронха на 4,6%; питомий об'єм запального інфільтрату стромі у хворих II гр. зростає на 7,2% більше; значно зростає питомий об'єм запального інфільтрату в цілому по стромі на 31,4% та поліморфноядерних лейкоцитів на 46,1%; майже у 2 рази зростає питомий об'єм судин стромі. Отже, при інфекційному загостренні ХОЗЛ спостерігається більш висока активність запалення, що створює передумови для прогресування ХОЗЛ, хронізації персистуючого запального процесу з наступним розвитком фіброзу власної пластинки слизової оболонки та стійкої бронхіальної обструкції.

При оцінці слизоутворення в бронхах при загостренні ХОЗЛ встановлені наступні особливості: у хворих з інфекційним загостренням ХОЗЛ виявлено порушення процесів слизоутворення більш виражене, ніж у хворих без інфекційного загострення. Так, при цьому практично не визначається слизовий секрет на поверхні покривного епітелію бронхів; у 2 рази зменшується синтез полісахаридів та глікопротеїнів слизу келихоподібними клітинами та на 37,8% зменшується їх кількість у клітинах слизових залоз; синтез кислих глікозаміногліканів слизу у келихоподібних клітинах зменшується при інфекційному загостренні ХОЗЛ на 33,6%, у клітинах слизових залоз у 2 рази. Окрім цього, у секреті переважають полісахариди та глікопротеїни, на відміну від не інфекційного загострення ХОЗЛ, де у слизовому секреті переважають кислі глікозаміноглікани. Таким чином, порушення слизоутворення та фізико-хімічних властивостей слизу, більш виражено при інфекційному загостренні ХОЗЛ, сприяє бактеріальній адгезії і прискорює ріст мікроорганізмів. Які, в свою чергу, володіють інгібуючим впливом на синтез і про-

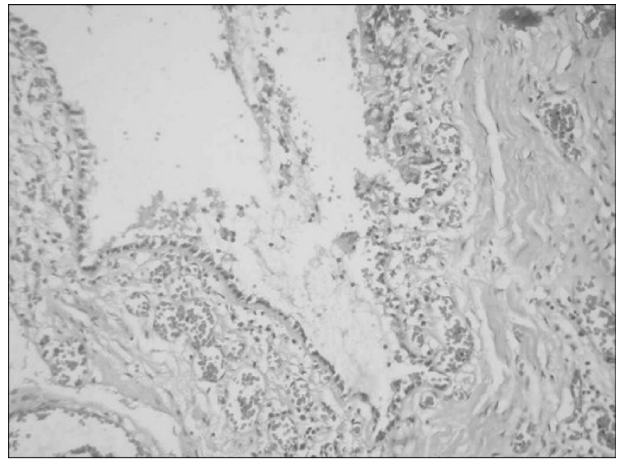


Рис. 1. Поверхня слизової оболонки бронха у хворого на ХОЗЛ I групи. Десквамований епітелій у просвіті бронха. Гематоксилін і еозин. Об. 10^x. Ок.10^x

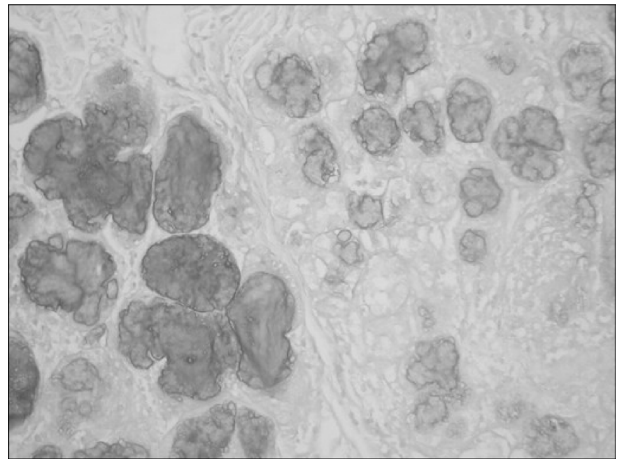


Рис. 2. Слизові залози бронха у хворих на ХОЗЛ I групи. Різний ступінь забарвлення. PAS-реакція. Об.20^x. Ок.10^x

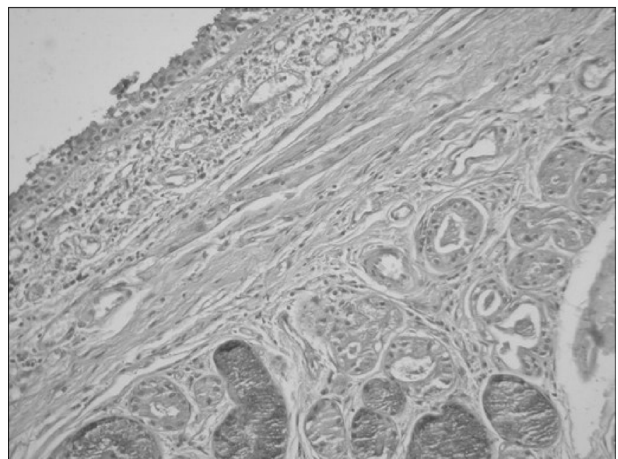


Рис. 3. Слизові залози бронха у хворих на ХОЗЛ I групи. Забарвлення альціановим синім за Стідменом. Об.10^x. Ок.10^x

дукцію компонентів слизу, сприяючи порушенню функціонування та цілісності слизових бар'єрів, створюючи передумови для мікробної колонізації, що підтверджується і даними літератури [7].

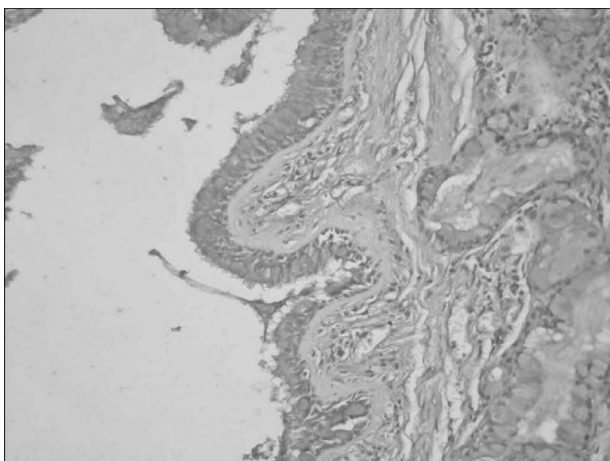


Рис. 4. Келихоподібні клітини слизової оболонки бронха у хворих на ХОЗЛ I групи. Забарвлення альціановим синім за Стідменом. Об.20^x.Ок.10^x

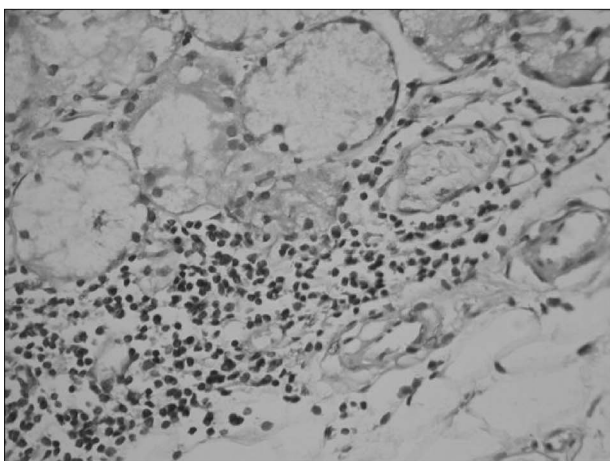


Рис. 5. Глибокі шари слизової оболонки бронха у хворих на ХОЗЛ II групи. Виразений запальний круглоклітинний інфільтрат з домішками поліморфноядерних лейкоцитів. Гематоксилін і еозин. Об.20^x.Ок.10^x

Висновок

При інфекційному загостренні ХОЗЛ III поглиблюються явища альтерації епітелію, запалення поширюється на більш глибокі шари стінки бронхів, змінюється клітинний склад запального інфільтрату, посилюються склеротичні явища в стромі бронхів, зменшується продукція слизу в епітеліоцитах слизових залоз та келихоподібних клітинах слизової оболонки бронха.

Перспективи подальших досліджень

Перспектива подальших досліджень полягає у встановленні можливого терапевтичного впливу на морфологічні зміни слизових бар'єрів бронхів при загостренні хронічного обструктивного захворювання легень.

Література. 1. Морфологические маркеры ремоделирования слизистой оболочки бронхов при тяжелой форме бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких / Суходоло И.В. [и др.] // Пульмонология. – 2009. – № 4. – С.64-

68. 2. Островський М.М. Вплив базового лікування хронічного обструктивного захворювання легень на процеси морфологічної перебудови та місцевих бар'єрних факторів захисту слизових оболонок бронхів / М.М. Островський, М.О. Кулініч-Міськів // Укр. пульмон. ж. – 2009. – №3. – С. 49-54. 3. Перцева Т. А. Особенности морфологических изменений слизистой оболочки бронхов у больных ХОЗЛ в зависимости от стадии заболевания / Т. А. Перцева, И. В. Ивах // Укр. пульмон. ж. – 2009. – №4. – С. 56-61. 4. Юдина Л.В. Инфекційне загострення хронічного бронхіту / Л.В. Юдина // Укр.мед. газета. – 2006. – № 2. – С.12-14. 5. Anthonisen N. Epidemiology and the lung health study / N. Anthonisen // Eur. Resp. Rev. - 1997. - Vol. 7(45).- P. 202-205. 7. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) / Workshop report, global strategy for diagnosis, management, and prevention of COPD.- Update 2011. Bethesda, National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute (2011)[Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.goldcopd.com>. 8. Mitchell E. Structural basis for oligosaccharide-mediated adhesion of Pseudomonas aeruginosa in the lung of cystic fibrosis patients / E. Mitchell // Nat. Struct.Biol. – 2002. – Vol. 9. – P. 918-921. 9. Sethi S. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / S. Sethi, N. Evans, B.J. Grant // N. Engl. J. Med.-2002.-Vol. 347.-P.465-471.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ БРОНХОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВАРИАНТА ОБОСТРЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛЕГКИХ

*С. В. Коваленко, А. Е. Дорофеев,
И. С. Давиденко, И. В. Василенко*

Резюме. В статье приведены данные собственных исследований особенностей морфологических изменений слизистой оболочки бронхов у больных хроническим обструктивным заболеванием легких (ХОЗЛ) во время обострения заболевания. Установлено усугубление явлений альтерации и воспаления стенок бронхов при инфекционном обострении ХОЗЛ с усилением склеротических явлений в строме бронхов и нарушением слизеобразования за счет уменьшения продукции слизи эпителиоцитами слизистых желез и бокаловидными клетками, что способствует бактериальной адгезии, нарушению функционирования и целостности слизистых барьеров бронхов.

Ключевые слова: хроническое обструктивное заболевание легких, морфология, слизистые барьеры, инфекционное обострение.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE MUCOUS COAT OF THE BRONCHI DEPENDING ON THE VARIANT OF AN EXACERBATION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

*S.V. Kovalenko, A.E. Dorofeyev,
I.S. Davydenko, I.V. Vasylenko*

Abstract. The paper submits the findings of the authors' own investigation of the specific characteristics of morphological changes of the mucous membrane of the bronchi in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) during exacerbations. An intensification of the phenomena of alteration and inflammation of the bronchial walls at infectious exacerbation of COPD accompanied by sclerotic phenomena in the bronchial stroma and a disturbance of the mucin production at the expense of a decrease of the mucous production by the epitheliocytes of the mucosal glands and goblet cells that is conductive to bacterial adhesion, disturbed functioning and the integrity of the mucous barriers of the bronchi has been established.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, morphology, mucous barriers, infectious exacerbation.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)
Donets'k National Medical University named after M. Gorky**

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №1 (43).-P.92-96.

Надійшла до редакції 07.02.2013

Рецензент – проф. Б. Г. Макар

© С. В. Коваленко, А. Е. Дорофеев, І. С. Давиденко,
І. В. Василенко, 2013