

и больший объем средств дополнительной терапии.

3. Применение максимальных (для каждой степени тяжести заболевания) доз комбинаций иГКС с ДДБА и небулизированных форм иГКС у больных БА с ХГРДП приводит к достоверному увеличению прямых медицинских расходов на стационарное лечение данной категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колосов В.П., Перельман Ю.М., Гельцер Б.И. Реактивность дыхательных путей при хронической обструктивной болезни легких // Владивосток: Дальнаука. 2006. 184 с.

2. Оптимизация поддерживающей терапии с использованием фармакоэкономической модели бронхиальной астмы (ОПТИМА) / Ягудина Р.И. [и др.] // Фармакоэкономика. 2010. Т.3, №1. С.40–46.

3. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Тюрикова Т.И.

Функциональная характеристика дыхательной системы на этапах формирования бронхиальной астмы // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2004. Вып.17. С.24–28.

4. Рудакова А.В. Фармакоэкономические аспекты комбинированной терапии бронхиальной астмы // Фармакоэкономика. 2010. Т.3, №1. С.47–51.

5. Фармакоэкономический анализ использования поддерживающего противоастматического лечения / Демко И.В. [и др.] // Пульмонология. 2008. №4. С.67–72.

6. Цой А.Н., Архипов В.В. Контроль над бронхиальной астмой: каким он будет завтра? Исследование GOAL // Пульмонология. 2004. №4. С.92–104.

7. GINA. Global strategy for asthma management and prevention (Update 2009). URL: <http://www.ginasthma.com> (дата обращения: 15.10.10).

Поступила 28.10.2010

Наталья Владимировна Авдеева, доцент кафедры пульмонологии,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95;
Natalia V. Avdeeva,
95 Gorky Str., Blagoveshchensk, 675000;
E-mail: n.avdeeva2009@ya.ru



УДК: 616.2-007.17[616.23-073(612.017.34/.086:547.962.9)]

С.С.Целуйко, Н.П.Красавина

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТИПОВ КОЛЛАГЕНА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ БИОПТАТОВ БРОНХОВ БОЛЬНЫХ С ДИСПЛАЗИЕЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России, РФ,
Благовещенск

РЕЗЮМЕ

При обострении хронических обструктивных заболеваний дыхательной системы в составе соединительной ткани слизистой оболочки бронхов выявляется наиболее высокая интенсивность реакции на коллагены I и V типов. На фоне проведенной терапии, ингаляций недокромила натрия и эндобронхиальном облучении инфракрасным лазером, происходит перераспределение в составе коллагена, а именно: снижение реакции на I тип и повышение интенсивности на III тип, что свидетельствует о явлениях деградации и перестройки коллагенов соединительной ткани слизистой оболочки бронхов.

Ключевые слова: бронхобиопсии, соединительная

ткань, коллагены I, II, III, IV, V типов, бронхиальная астма, хронический обструктивный бронхит, недокромил натрия, инфракрасный лазер.

S.S.Tseluyko, N.P.Krasavina

IMMUNOCYTOCHEMICAL CHARACTERISTIC OF BRONCHI BIOPATS CONJUNCTIVE TISSUE COLLAGEN TYPES IN PATIENTS WITH RESPIARTORY APPARATUS DYSPLASIA

SUMMARY

In exacerbations of chronic obstructive pulmonary diseases the highest reaction intensity to collagens of the I and V types is revealed in the composition of conjunctive tissue of bronchi mucous tunic. Against the therapy that was carried out, inhalations

with nedokromil sodium and endobronchial irradiation by infrared laser, redistribution in the composition of collagen occurs, namely, a reduction of the reaction to the I type and an increase in the intensity to the III type, which indicates degradation and reconstruction of collagens of bronchi mucous tunic conjunctive tissue.

Key words: bronchobiopsies, conjunctive tissue, I, II, III, IV, V collagen types, bronchial asthma, chronic obstructive bronchitis, nedokromil sodium, infrared laser.

В структуре заболеваемости с временной утратой трудоспособности болезни органов дыхания занимают ведущее место. В Дальневосточном регионе наибольший удельный вес в структуре заболеваний населения составляют больные с патологией лёгких (22%). При этом хронический обструктивный бронхит (ХОБ) с явлениями дисплазии соединительной ткани у больных является ведущим среди болезней дыхательной системы – 69,2% [1, 7, 8]. Одна из актуальных проблем настоящего времени – поиск качественных критериев для оценки стадии воспаления и восстановления при заболеваниях бронхолёгочной системы.

Хронические обструктивные заболевания лёгких, сопровождающиеся дисплазией соединительной ткани, фактически являются следствием комбинации воспалительных заболеваний воздухоносных путей (бронхов) и энзиматической деструкции лёгочной паренхимы. При воспалительных, дистрофических и деструктивных процессах в лёгких различные соединительнотканые компоненты (коллагеновые и эластические волокна, основное вещество) являются объектами протеолитической агрессии [2, 5, 9].

Коллаген – основной компонент, входящий в состав соединительной ткани. В лёгких коллаген представлен пятью типами. Наиболее толстые фибриллы в зрелом коллагеновом волокне представлены I типом, коллаген III типа имеет тонкие фибриллы, IV тип коллагена действует как якорная молекула для мигрирующих клеток. Коллагены I, II и III типов называют интерстициальными. Они формируют фибриллярный каркас межклеточно-го вещества соединительных тканей. Кроме этих трёх коллагенов, способностью формировать небольшие фибриллы обладают также коллагены V и VI типов. Коллаген V типа встречается повсеместно, где есть коллаген I типа, присутствует в стенке кровеносных сосудов и играет уникальную роль как составная часть непосредственного микроокружения клеток. Содержание I и III типов коллагена в лёгких здоровых лиц, в среднем, находится в соотношении 1:2, редко встречается содержание коллагена I типа более 33%. Количество I и V типов коллагена соотносятся примерно как 30:1 [8, 6, 12, 14].

При патологических процессах, сопровождающихся дисплазией и воспалением, когда происходит разрушение коллагена, продукты его распада могут служить стимулятором репаративных процессов, а вновь созданные структуры могут тормозить синтез нового коллагена. Избыточное нерегулируемое коллагенообразование, с изменением соотношения типов

коллагена и появлением нетипичных форм, характерно для патологии органов дыхания, имеющих затяжное течение.

В лёгких коллаген накапливается при различных заболеваниях, повышенное образование коллагенов I–III типа происходит при хронических воспалительных процессах. Предполагается, что синтез коллагена III типа увеличивается в ранних стадиях заболевания, а коллагена I типа – в поздних. Неограниченное коллагенообразование, появление коллагеновых волокон в участках паренхимы лёгких характерны для развития дисплазии и фиброза [2, 7, 13].

Процессы дисплазии и фиброзирования в лёгочной ткани развиваются как вторично в виде исхода перенесённых воспалительных процессов, так и первично, в качестве самостоятельной патологии. Для понимания процессов дисплазии и фиброзирования центральное место занимает изучение вопросов обмена патологически изменённой соединительной ткани на фоне терапии. Применение ряда препаратов (ингаляционных кортикостероидов, антибиотиков и др.) уже даёт возможность снизить тяжесть обострения. В тоже время нельзя исключать возможность комбинированного применения уже известных препаратов, изменение методики введения данных лекарств. Недокромил натрия (Тайлед) представляет собой химическое соединение, специально предназначенное для лечения воспалительного процесса в дыхательных путях, это нестероидный противовоспалительный препарат, являющийся стабилизатором клеточных мембран. Он вызывает уменьшение бронхоспазма, снижает повышенную проницаемость сосудов, ведущую к отёку [11, 15]. Действие лазерного излучения на повреждённую ткань приводит к уменьшению интерстициального и внутриклеточного отека, что связано с повышением кровотока в ткани, активации транспорта веществ через сосудистую стенку. Для воздействия на глуболежащие ткани наиболее целесообразно применение импульсного инфракрасного излучения с длиной волны 0,89 мкм, так как это излучение является универсальным. Лазерная терапия улучшает кровоток в легких, снимает бронхоспазм (эффективность зависит от исходного состояния бронхов), корректирует процессы перекисного окисления липидов [3, 4].

Разработка и морфологическое обоснование новых методов лечения и внедрение их в клиническую практику могут внести значительный вклад в решение проблемы лечения хронических обструктивных заболеваний лёгких, сопровождающиеся дисплазией соединительной ткани.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на основе гистологического исследования бронхобиопсийного материала пациентов, находящихся на лечении в Амурской областной клинической больнице с диагнозом хронического ХОБ и бронхиальной астмы (БА), в основном средней степени тяжести, сопровождающегося дисплазией соединительной ткани.

При отборе больных для проведения бронхоскопии за основу были взяты рекомендации Европейского пульмонологического общества. Эндоскопическое исследование осуществлялось с использованием фибробронхоскопа фирмы «Olympus» (Япония). При интерпретации эндоскопической картины руководствовались классификацией J.Lemoine (1971). У всех больных, поступающих в клинику, эндоскопическая картина соответствовала двустороннему диффузному катаральному или катарально-гнойному эндобронхиту. После проведённого в течение 10-14 дней лечения у данных больных повторно выполняли биопсию.

Гистологическому исследованию подвергнут материал биопсий со шпоры правого верхнедолевого бронха у 47 больных (32 мужчины и 15 женщин) в возрасте от 22 до 58 лет сразу после поступления в клинику и через 10-14 дней после начала терапии. Указанным пациентам применяли следующие методы лечения.

- У 15 больных ХОБ на фоне общей терапии применяли лазерное облучение импульсным терапевтическим аппаратом АЛТ «Узор» (Россия) с длиной волны излучателя $0,89 \pm 0,02$ мкм, частотой повторения импульсов 300-600 Гц, в непрерывном автоматическом режиме работы, с мощностью потока на выходе 20 мВт/см². Время одной процедуры составляло 5 минут, число процедур колебалось от 3 до 10 (до восстановления нормальной картины бронхиального дерева).

- У 15 больных БА и ХОБ в качестве лечения использовали базисную терапию только недокромилем натрия. Препарат пациенты получали в виде ингаляций в дозе 4 мг 3-4 раза в день, или эндобронхиального орошения водным раствором с общекурсовой дозой 8-12 мг.

- У 17 больных БА и ХОБ базисная терапия проведена с ингаляционным или эндобронхиальным применением недокромилем натрия в сочетании с эндобронхиальной лазеротерапией согласно указанной выше методике.

Биопсийный материал с целью получения полутонких и ультратонких срезов для трансмиссионной микроскопии обрабатывали по методу Coalson et al. (1986). Часть материала после получения полутонких серийных срезов толщиной 1,5-2 мкм помещали на предметные стёкла, покрытые 1% раствором поли-L-лизина для проведения непрямой иммуноцитохимической реакции с целью выявления I, III, IV и V типов коллагена (J.Roth, 1983; Д.Полак, 1987). Для этого использовали антисыворотки ТПКО «Динго» (Россия) – моноспецифические, первичные к I, III, IV и V типам коллагена, козы, не связанные с маркером. Рабочее разведение определяли экспериментально, оно составило для первичных антител от 1:20 до 1:40, для вторичных антител 1:50. Визуальные метки – 0,03% раствор диаминобензидина на 0,05 н трис-буфере в присутствии 0,015% раствора перекиси водорода. Проведены контроли: исключение этапа подавления эндогенной пероксидазы и этапа вторичных антител –

реакция отрицательная; исключение первичных антисывороток – реакция отрицательная.

Результаты исследования и их обсуждение

Иммуноцитохимическое определение типов коллагена в соединительной ткани биопсийного материала больных БА и ХОБ позволило выявить высокую реакцию диффузного характера на коллаген I типа в собственной пластинке слизистой по ходу волокнистых структур и очаговую реакцию в базальной пластинке эпителия, а также вокруг кровеносных сосудов. Коллаген III типа обнаруживается по ходу волокон в собственной пластинке значительно слабее, чем I тип коллагена. Выявляются отдельные фрагменты интенсивной окраски по ходу волокон и вокруг кровеносных сосудов, в основном, капилляров и венул. В базальной пластинке реакция несколько снижена. Коллаген IV типа хорошо выявляется в базальном слое эпителия, в собственной пластинке в виде точечных зон по ходу волокон и очагов в стенке кровеносных сосудов. Реакция на V тип коллагена аналогична I типу, но необходимо отметить, что интенсивность ее ниже и выявляется в виде грубых очаговых скоплений продуктов реакции по ходу волокон, имеет диффузный характер в базальном слое эпителия и резко усилена в стенке кровеносных сосудов (рис. 1).

После проведённой терапии облучением инфракрасным лазером у больных ХОБ в слизистой оболочке бронха реакция на коллаген I типа по ходу волокон значительно снижается, практически без изменения остаётся в базальном слое эпителия. Анализ распределения коллагена III и IV типов выявил два уровня реакции. В одном случае, в очагах с повышением III типа коллагена резко усиливается интенсивность реакции на IV тип. При другом варианте, где реакция на III и IV типы коллагена выявляется слабо, отмечена низкая интенсивность во всех структурах. Усиление реакции на коллаген III типа регистрируется по ходу волокон собственной пластинки слизистой и в базальном слое эпителия. Особенно высокая реакция IV типа коллагена отмечена в базальном слое эпителия, по ходу базальных мембран кровеносных сосудов. В собственной пластинке происходит усиление реакции в виде отдельных фрагментов по ходу волокон (рис. 2). Реакция на V тип коллагена сохраняет свою повышенную интенсивность.

У больных БА и ХОБ после проведения курса терапии в виде орошения и ингаляций тайледом реакция при выявлении I и III типов коллагена примерно одинакова и выявляется, в основном, по ходу волокон в собственной пластинке слизистой. Зоны с повышенной активностью чередуются с участками слабой интенсивности. Реакция на коллаген IV типа практически отсутствует, сохраняется отдельными очагами вокруг кровеносных сосудов. Интенсивность реакции на коллаген V типа практически не изменяется, остаётся достаточно высокой по ходу волокон и в стенке кровеносных сосудов.

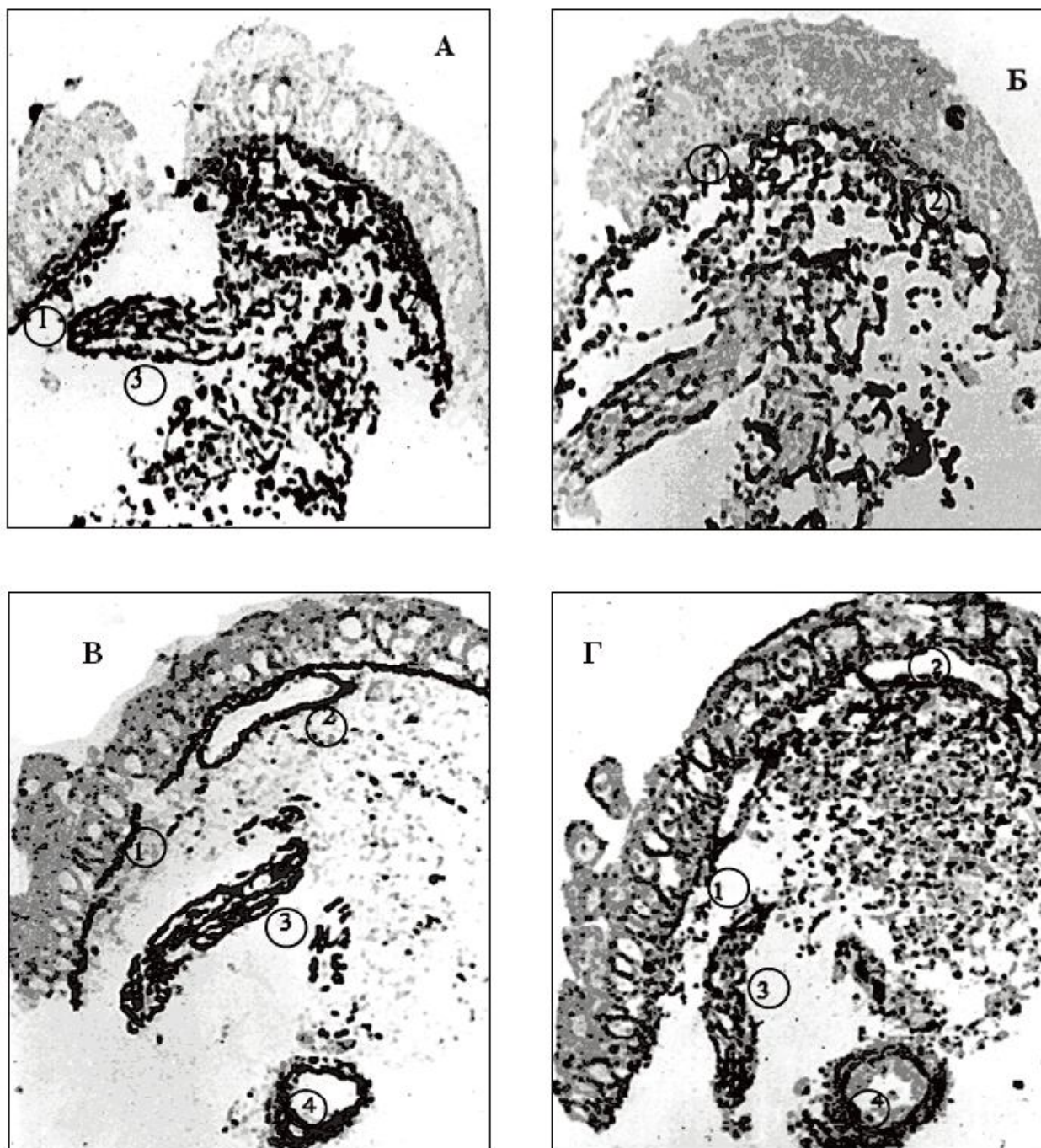


Рис.1. Иммуногистохимическая локализация коллагена I типа (А), III типа (Б), IV типа (В) и V типа (Г) на серийных срезах биоптата бронха больного ХОБ в стадии обострения. 1 – базальный слой, 2 – кровеносный капилляр, 3 – гладкомышечные клетки, 4 – кровеносный сосуд. Полутонкие срезы. Иммуноцитохимическая реакция по J.Roth, Д.Полак. Увеличение: $\times 560$.

При проведении лечебных мероприятий путем введения недокромила натрия и облучения инфракрасным лазером у больных БА и ХОБ в слизистой бронхов снижается интенсивность реакции на коллаген I типа по ходу волокнистых структур, практически исчезают зоны скопления грубых пучков волокон. Реакция на коллаген III типа по интенсивности распределения соответствует коллагену I типа. Диффузно повышается уровень реакции на коллаген IV типа по ходу волокон и в базальных мембранах кровеносных сосудов, снижается интенсивность в базальном слое эпителия. Ре-

акция на коллаген V типа носит очаговый характер, сохраняя элементы высокой активности в базальном слое эпителия.

Таким образом, при обострении заболеваний дыхательной системы независимо от генеза воспалительного процесса в структуре долевых бронхов выявляется повышенная интенсивность реакции на коллагены I и V типов. По мнению ряда авторов [6, 10, 12], коллаген I типа является более зрелым, формируется после перенесенного воспаления в более поздних стадиях, в процессе развития рубцовой ткани. Колла-

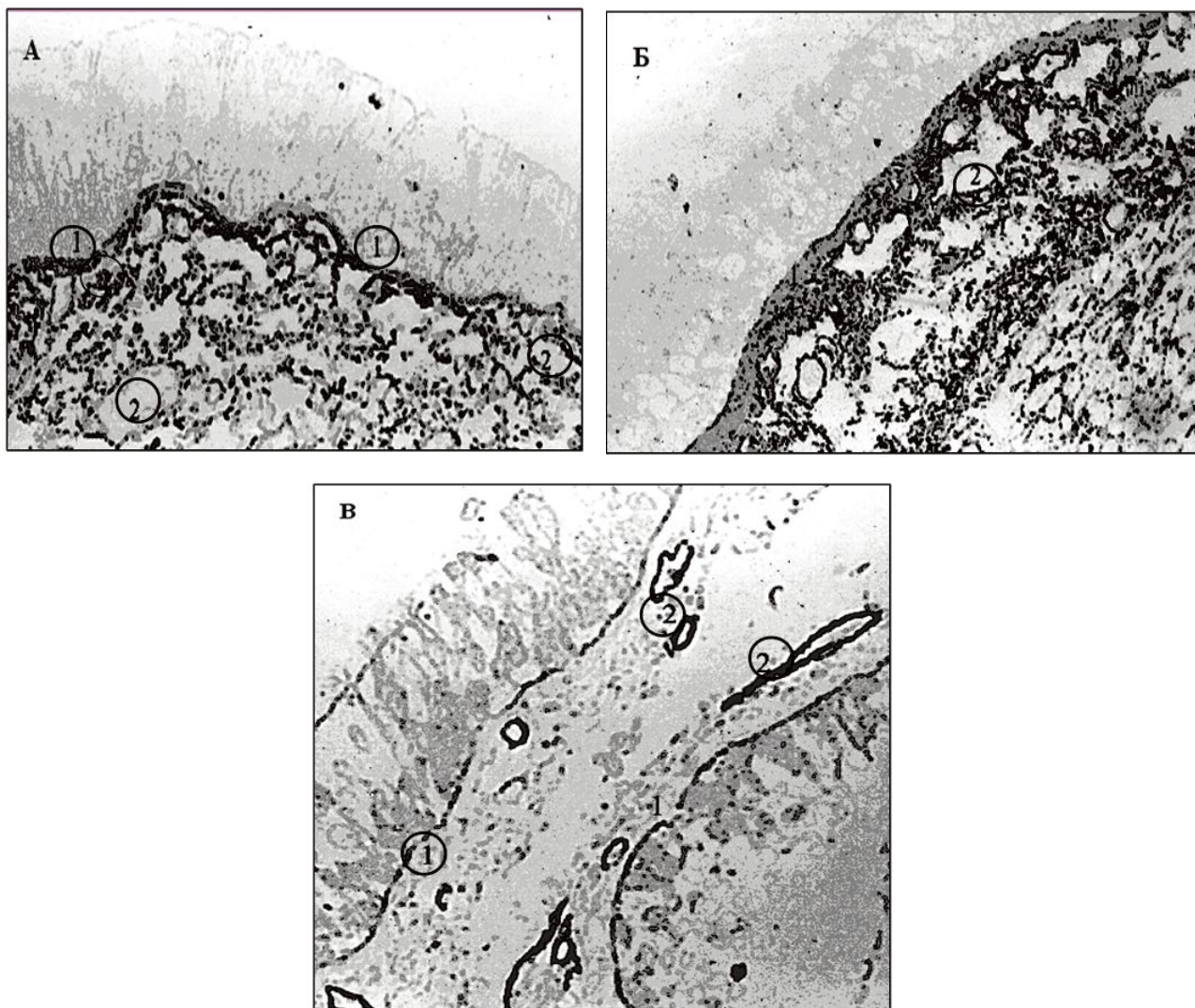


Рис.2. Иммуногистохимическая локализация коллагена I типа (А), III типа (Б), IV типа (В) на серийных срезах биоптата бронха больного ХОБ после лечения инфракрасным лазером. 1 – базальный слой, 2 – кровеносный капилляр. Полутонкие срезы. Иммуноцитохимическая реакция по J.Roth, Д.Полак. Увеличение: $\times 560$.

ген V типа встречается везде, где есть коллаген I типа, и он входит в микроокружение клеток. При обострении воспалительного процесса в бронхах изменяется соотношение между I и V типами коллагенов в сторону увеличения последнего в 5-6 раз. Полученные данные позволяют говорить о длительном течении патологического процесса и появлении дисплазии и фиброза в соединительной ткани бронхов, вероятно в результате повышения синтетической активности фибробластов, участвующих в продукции коллагена I типа и эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, секретирующих V тип коллагена [2, 9, 13].

Применение инфракрасного лазера у больных ХОБ привело к повышению в соединительной ткани бронха уровня реакции на III тип коллагена и снижению на I тип. Несмотря на то, что данные изменения носят очаговый характер, всё свидетельствует о явлении перестройки в соединительной ткани. В участках, где происходило разрушение коллагена I типа, на его

смену образуется коллаген III типа, что подтверждается данными электронной микроскопии (рис. 3). Здесь появляются более тонкие коллагеновые фибриллы, между которыми достаточно много аморфного вещества. Положительным моментом является увеличение IV типа коллагена, который не образует фибрилл. Аналогичная динамика перестройки соединительной ткани слизистой оболочки бронха является у больных БА после проведения сочетанной лечебной терапии – облучения инфракрасным лазером и введения недокромила натрия.

Таким образом, проведённая терапия изменяет соотношение типов коллагена в соединительной ткани бронха в сторону частичного разрушения очагов фиброза, сформированных в результате длительного течения патологического процесса, образуя на их месте участки, имеющие структуру более характерную для нормального строения соединительной ткани. Хотя из данных литературы известно, что процесс изменений

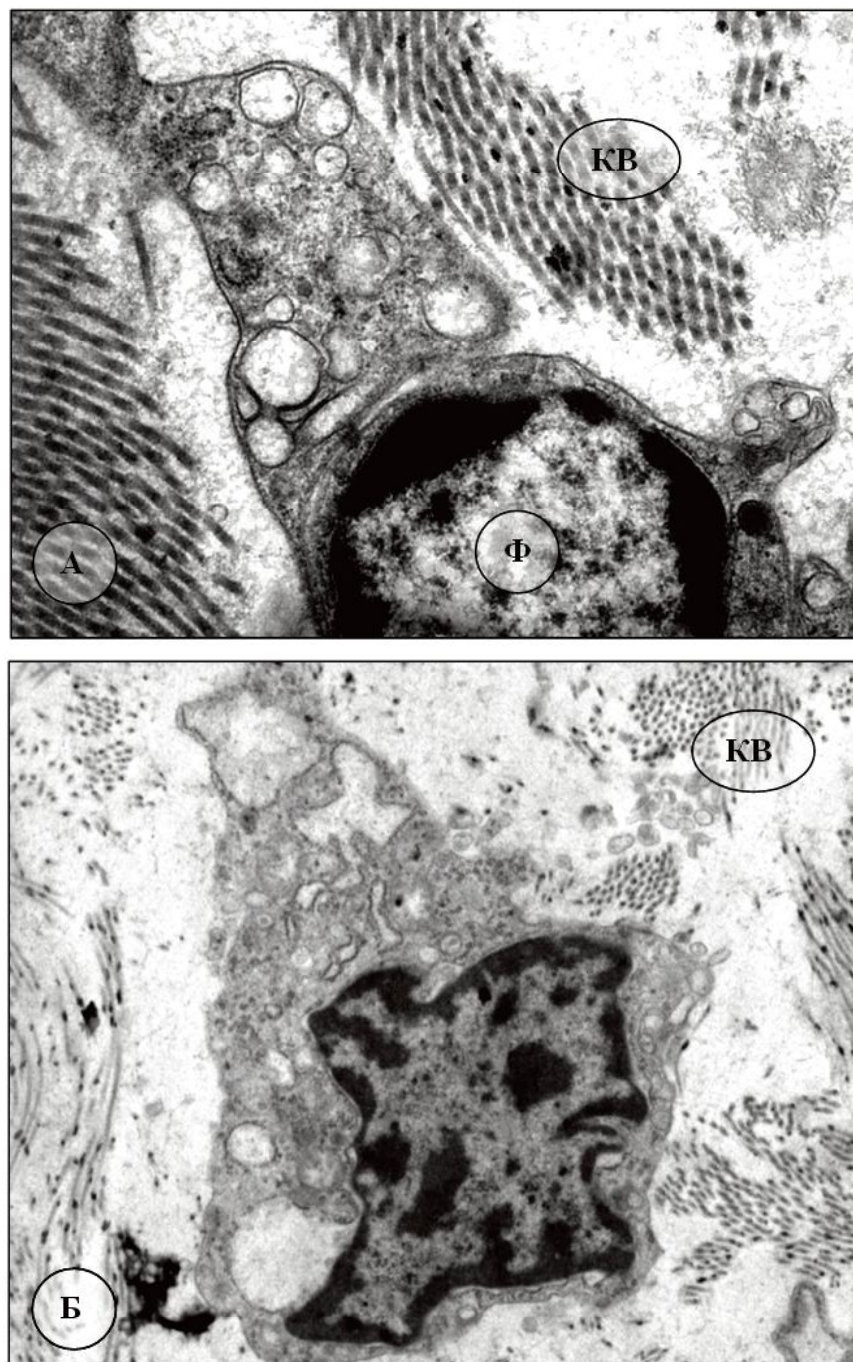


Рис. 3. Электроннограммы слизистой оболочки биоптата бронха больного БА в стадии обострения (А) и после сочетанного применения недокромила натрия и облучения инфракрасным лазером (Б). Фибробласт (Ф), коллагеновые волокна (КВ). Заливка: аралдит-эпон. Окраска: уранилацетат, цитрат свинца. Увеличение: А $\times 15000$, Б $\times 10000$.

в соединительной ткани при исходе воспаления проявляется на ранних стадиях появлением III типа коллагена, с последующей заменой его на I тип [8, 10, 14]. Наличие достаточно высокой реакции на коллаген IV типа позволяет судить об изменении хода процесса перестройки, способной привести к исчезновению очагов с выраженным фиброзом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бронхиальная астма: пер. с англ. / под ред. М.Э.Гершвина. М.: Медицина, 1984. 464 с.
2. Воспаление. Руководство для врачей / под ред. В.В.Серова, В.С.Паукова. М.: Медицина, 1995. 640 с.
3. Основы лазерной и рефлексотерапии / Козлов В.И. [и др.]. Самара, Киев: Здоровье, 1993. 216 с.
4. Лазеры в клинической медицине. Руководство для врачей / под ред. С.Д.Плетнёва. М.: Медицина, 1996. 432 с.
5. Мотавкин П.А., Гельцер Б.И. Клиническая и экспериментальная патофизиология лёгких. М.: Наука,

1998. 366 с.

6. Омеляненко Н.П., Слущкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). М.: Росмедтехнология, 2009. Т.1. 374 с.

7. Респираторная медицина / под ред. А.Г.Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. Т.1. 800 с.

8. Руководство по пульмонологии / под ред. Н.В.Путова., Г.Б.Федосеева. Л.: Медицина, 1978. 504 с.

9. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. М.: Медицина, 1981. 312 с.

10. Юрина Н.А., Радостина А.И. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани. М.: Изд-во Университет Дружбы народов, 1990. 322 с.

11. Barnes P.J. Effects of nedocromil sodium on airway microvascular leakage and neural reflexes // Drugs. 1989. Vol.37, №1. P.94–100, discussion P.127–136.

12. Birk D.E., Silver F.H. Collagen fibrillogenesis in vitro: comparison of types I, II and III // Arch. Biochem. Biophys. 1984. Vol. 235, №1. P.178–185.

13. Madri J., Furthmayer H. Collagen polymorphism in lung. An immunochemical study of pulmonary fibrosis // Hum. Pat. 1980. Vol.11, № 4. P.353–366.

14. Miller J.M. Collagen types: structure, distribution and function // Collagen / Eds. by M.E.Nimni. Florida: CRC Press, 1988. Vol.1. P.140–157.

15. Rainey D.K. Nedocromil sodium (Tilade): a review of preclinical studies // Eur. Respir. J. Suppl. 1989. Vol.6. P.561–565.

Поступила 21.10.10

*Сергей Семенович Целуйко, зав. кафедрой гистологии и ЦНИЛа АГМА,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95;
Sergey S. Tseluyko,
95, Gorkogo Str., Blagoveschensk, 675000;
E-mail: agma@amur.ru*



УДК 616.248:616.233-073.27/.076.5

С.В.Зиновьев

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГОЧНЫХ МАКРОФАГОВ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОМ ЛАВАЖЕ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

*ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России,
Благовещенск*

РЕЗЮМЕ

Изучены морфометрические характеристики альвеолярных макрофагов, содержащихся в бронхоальвеолярном лаваже больных бронхиальной астмой. Проведен корреляционный анализ морфометрических параметров клеток бронхоальвеолярного лаважа, в результате которого установлена положительная взаимосвязь между морфометрическими параметрами ядра и цитоплазмы мононуклеарных фагоцитов легких у больных БА.

Ключевые слова: легочные макрофаги, бронхоальвеолярный лаваж, морфометрия.

SUMMARY

S.V.Zinoviev

MORPHOMETRICAL CHARACTERISTICS OF ALVEOLAR MACROPHAGS IN BRONCHOALVEOLAR LAVAGE IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

Morphometrical characteristics of alveolar macrophages in bronchoalveolar lavage in patients with bronchial asthma were studied. The correlation analysis of morphometrical parameters of bronchoalveolar lavage cells was carried out. As a result the positive interrelation between morphometric parameters of nuclear and cytoplasm of mononuclear phagocytes of