

*Н. А. Щербань*

## **МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ В БРОНХОЛЕГОЧНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК**

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

Изучение капиллярного кровотока не только представляет интерес для многих исследователей в научном аспекте как способ познания механизмов организации тканевого обмена, но и позволяет выявить особенности регуляции микрососудистого русла, что имеет большую практическую значимость [1]. Система микрогемодикуляции является важным компонентом обеспечения адекватной перфузии органов и тканей, однако при ряде патологических процессов она может претерпевать существенные изменения. Эти изменения в первую очередь касаются таких жизненно важных органов, как сердце, головной мозг, легкие и почки [2]. Как известно, при почечной недостаточности имеется ряд причинных факторов, приводящих к системному расстройству функционирования микроциркуляторного звена: длительное воздействие уремическими токсинами, провоспалительными цитокинами, коагуляционные и реологические нарушения, сопровождающиеся повышением агрегационной способности эритроцитов, вязкости крови, увеличением гематокрита [3]. Установлено, что у больных ХБП отмечаются активация перекисного окисления липидов и преобладание свободно-радикальных реакций над антиоксидантной активностью ферментативных систем эритроцитов. Гиперпродукция активных форм кислорода оказывает повреждающее действие на липидосодержащие, белковые и полисахаридные структуры клеточной стенки, в том числе и эндотелиоцитов [4, 5]. По мнению ряда исследователей, именно эндотелий сосудов обеспечивает экспрессию эндотелиальной изоформы NO-синтазы, которая катализирует синтез NO из L-аргинина и способствует расслаблению гладкомышечных клеток сосудов [6, 7]. Проводимые клинические исследования выявили значительное уменьшение метаболитов NO в крови у больных ХБП. Известно, что образовавшийся из эндотелиальных клеток и тромбоцитов NO стимулирует образование цГМФ, что приводит к снижению концентрации  $Ca^{2+}$  в гладкомышечных клетках и достижению вазодилатирующего эффекта [8, 9]. Несостоятельность микроциркуляторного русла связана не только с изменением его функциональной активности, но и с морфологической перестройкой сосудистой стенки и окружающей соединительной ткани. Часто обнаруживаемые на поздних стадиях ХБП рентгенологические изменения в легких, характеризующиеся развитием прикорневого и базального фиброза, наличие рестриктивных нарушений функции внешнего дыхания, а также изменение бронхоскопической картины при отсутствии сопутствующей респираторной патологии в виде диффузного и атрофического эндобронхита позволили предположить, что одной из вероятных причин развития перечисленных изменений является нарушение микроциркуляции.

В связи с этим изучение морфофункционального состояния микрогемодикуляторного русла слизистой оболочки бронхов у больных ХБП на разных стадиях заболевания явилось целью проводимого исследования.

**Материалы и методы исследования.** Для изучения микрогемодициркуляции в периферических отделах бронхиального дерева 48 больным ХБП выполнялась эндобронхиальная лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) по методике, разработанной Е. С. Кравец с соавторами (Патент 2281684 Российской Федерации, МПК<sup>7</sup> А61В1/267), с использованием лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛААК-02 («ЛАЗМА», г. Москва). Средний возраст больных составил  $43,6 \pm 1,7$  лет, из них женщин — 23 (47,9%), мужчин — 25 (52,1%). Метод основан на зондировании участка исследуемой ткани лазерным излучением с последующим фотометрированием и анализом переменной и постоянной составляющих отраженного сигнала. Постоянный сигнал формируется при отражении от статических объектов, переменный — от движущихся структур, которыми являются форменные элементы крови, в первую очередь эритроциты. Амплитуда отраженного сигнала позволяет оценить количественное и качественное распределение эритроцитов в сосудах микроциркуляторного русла и охарактеризовать степень выраженности функциональных нарушений. Основным показателем, определяющим изменение потока крови в единицу времени в зондируемой области, является показатель микроциркуляции (ПМ). Его значение рассчитывается следующим образом:  $ПМ = K \cdot N_{эр} \times V_{ср}$ , где: ПМ — показатель микроциркуляции, K — коэффициент пропорциональности (K = 1),  $N_{эр}$  — количество эритроцитов,  $V_{ср}$  — средняя скорость эритроцитов в зондируемом объеме. Для исследования эритроцитарного потока используются волны излучения длиной 0,63 мкм и 1,15 мкм, которые позволяют зондировать объем ткани 1–1,5 мм<sup>3</sup>. Для достоверной оценки состояния микрососудистого кровотока у больных ХБП из исследования исключались пациенты с уровнем гемоглобина менее 100 г/л, эритроцитов — менее  $3 \times 10^9$ /л, проведение ЛДФ у которых было возможным только после коррекции анемического синдрома. Запись ЛДФ-граммы проводили в течение 3 минут, после чего с помощью программного обеспечения, поставляемого вместе с анализатором ЛААК, вычислялись расчетные параметры микрогемодициркуляции. Кроме статических средних величин перфузии тканей (ПМ,  $\sigma$ , Kv) определялись амплитудно-частотные характеристики колебаний кровотока с регистрацией амплитуд эндотелиальных ( $A_э$ ), нейрогенных ( $A_н$ ), миогенных ( $A_м$ ), дыхательных ( $A_д$ ) и сердечных колебаний ( $A_с$ ). Kv и  $\sigma$  отражают модуляцию тканевого кровотока в зависимости от колебания потока эритроцитов. Использование амплитудно-частотного анализа ЛДФ-грамм с применением математического вейвлет-преобразования позволило определить вклад отдельных механизмов регуляции, модулирующих кровяной ток. К «активным» факторам контроля микроциркуляции относят эндотелиальный, миогенный и нейрогенный компоненты, которые регулируют поток крови, непосредственно воздействуя на сосудистую стенку, и реализуются через ее мышечный компонент. К «пассивным» относят факторы, вызывающие колебания кровотока вне системы микроциркуляции: это присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен и пульсовая волна со стороны артерий. Воздействие этих факторов на поток крови приводит к изменению модуляции кровотока, которая и регистрируется в виде сложного колебательного процесса.

Эндобронхиальная биопсия проводилась из места установки световодного зонда после окончания записи ЛДФ-граммы. Обработка биопсийного материала проводилась по методике Coalson Y. Y., Winter V. T. et al. (1986). Полутонкие срезы получали на ультратрамикротоме «LKB-NOWA» с последующей окраской метиленовым синим. Микрофотографирование осуществлялось на фотомикроскопе Microphot-FXA (фирма NIKON — Япония) при увеличениях  $\times 25, 50, 150, 250$  (иммерсия). Ультратонкие срезы изучали с помощью электронного микроскопа Tecnaï G2 Spirit TWIN (фирмы

«FEI Comranu» — Нидерланды) после предварительного окрашивания уранилацетатом и цитратом свинца.

Статистическую компьютерную обработку проводили с использованием программы STATISTICA 6.0. (StatSoft Inc., 1984–2001). Нормальность выборочного распределения оценивалась по критериям Колмогорова—Смирнова. Для сравнения двух зависимых выборок применяли тест согласованных пар Вилкоксона. Определение значимых различий между двумя независимыми выборками проводилось по *U*-критерию Манна—Уитни.

**Результаты.** Для достоверной оценки состояния микроциркуляторного русла на разных стадиях ХБП больные были распределены по группам согласно классификационным критериям, предложенным Национальным почечным фондом США (NKF, 2003). Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц (таблица).

Показатели ЛДФ-граммы в проксимальных отделах бронхов у больных ХБП

Показатели	Контроль (n = 20)	I группа (n = 9)	II группа (n = 10)	III группа (n = 12)	IV группа (n = 9)	V группа (n = 8)
ПМ, ПЕ	82,3±5,3	42,6±3,1**	28,4±1,5***	13,6±2,5***	11,3±3,4***	14,2±2,6***
$\sigma$ , ПЕ	10,7±0,5	10,3±0,6	10,1±0,8	9,6±1,1*	8,4±0,9*	9,1±1,8*
Kv, ПЕ	13,8±1,2	26,4±1,6**	41,5±0,3**	46,2±1,8**	53,9±1,2***	44,8±3,2**
A <sub>э</sub> , ПЕ	3,9±0,4	3,3±0,5*	3,2±0,3*	2,2±0,4**	2,1±0,6**	1,9±0,7**
A <sub>п</sub> , ПЕ	3,2±0,7	3,1±0,6	2,8±0,8*	2,1±0,7**	1,8±0,4**	2,1±0,6*
A <sub>м</sub> , ПЕ	3,6±0,8	3,3±0,6	3,2±0,8*	3,1±0,6*	2,3±0,2*	2,2±0,5*
A <sub>д</sub> , ПЕ	3,7±0,5	3,1±0,7*	2,3±0,4*	2,1±0,7**	1,2±0,4***	1,7±0,6***
A <sub>с</sub> , ПЕ	3,4±0,4	2,3±0,5*	1,2±0,6**	0,9±0,3***	0,6±0,2***	0,7±0,4***

Примечания: ПЕ — перфузионные единицы; \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$  — уровень достоверности различий между показателями основных и контрольной групп.

Нарушения микрогемодикуляции при ХБП имели место уже на ранних стадиях заболевания, когда ведущими клиническими признаками являлись проявления основного нозологического процесса, вызвавшего почечную патологию. Микрогемодикуляторные расстройства у нефрологических больных имеют системный характер и распространены во всех органах и системах, в том числе и респираторной. Основные изменения микрогемодикуляции в бронхиальном дереве на начальных этапах ХБП характеризовались снижением ПМ, отражающим общее состояние перфузии в исследуемой ткани, и вариабельностью кровотока (Kv), причиной возникновения которых могут быть различные патогенетические механизмы, регулирующие состояние микрогемодикуляции при каждой конкретной нозологии, вызвавшей ХБП. Расстройства функционирования микрососудистого русла при ХБП на этих этапах могут быть обусловлены рядом факторов: оксидативным стрессом; дислипидемией; активацией цитокинов, ренин-ангиотензин-альдестероновой системы; коагуляционными и реологическими нарушениями [8, 10]. Выявлено, что существенное влияние в развитии микрогемодикуляторных расстройств на начальных стадиях ХБП оказывают «пассивные» механизмы регуляции сосудистого тонуса, что проявляется снижением амплитуды кардиальных и дыхательных волн. Такие изменения на ранних стадиях болезни могут быть обусловлены сокращением притока крови в артериолярное русло в связи с вазоспастической артериолярной реакцией, являющейся следствием активации ренин-ангиотензин-альдестероновой системы, длительная персистенция которой приводит к прогрессирующему повышению тонуса артериол и прекапиллярных сфинктеров, нарушению нутритивного кровотока и обменных процессов в тканях. Снижение амплитуд колебаний

в дыхательном диапазоне чаще всего связано со снижением емкости венолярного русла, что в условиях почечной недостаточности может быть следствием интрабронхиального отека и недостаточного поступления крови в вены. По мере прогрессирования ХБП усугубляется дисбаланс в деятельности «пассивных» механизмов регуляции сосудистого тонуса, кроме того, нарушается работа активных факторов контроля микроциркуляции, непосредственно воздействующих на тонус сосудистой стенки. В терминальной стадии почечной недостаточности отмечалось некоторое увеличение  $A_d$ , что могло быть объяснено ухудшением оттока венозной крови из микроциркуляторного русла и возрастанием ее объема в венолярном звене. Такие изменения могли возникнуть в результате уменьшения градиента венозного давления, обусловленного снижением легочной механической активности на фоне выраженной гипергидратации и развития нефрогенного отека легких.

Одной из существенных составляющих, определяющих адекватное функционирование микроциркуляторного русла, является эндогенная регуляция сосудистого тонуса вазоактивными веществами. Развитие эндотелиальной дисфункции микрососудистого русла способствует нарушению трофических процессов в бронхиальной стенке, легочной паренхиме и формированию легочной гипертензии [11]. Проведенный вейвлет-анализ позволил выявить снижение амплитуды эндотелиальных колебаний по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало о значительном нарушении метаболической активности эндотелия сосудов микроциркуляторного русла бронхов. Предполагается, что нарушение вазорегулирующей функции эндотелия при хронической почечной недостаточности обусловлено как непосредственным влиянием уремических токсинов, свободных радикалов на эндотелиоциты, так и прогрессирующим снижением числа пула эндотелиальных клеток капилляров почечных клубочков по мере уменьшения количества функционирующих нефронов, что приводит к снижению продукции оксида азота, обладающего вазодилатирующим эффектом [12, 13]. Выраженность эндотелиальной дисфункции находилась в тесной корреляционной зависимости с уровнем креатинина крови ( $r = -0,84$ ,  $p < 0,001$ ).

У больных ХБП отмечалось значительное снижение амплитуд нейрогенных колебаний, связанных с влиянием симпатической системы на гладкомышечные клетки артериолярного русла. Снижение амплитуды колебаний в данном диапазоне явилось следствием активации симпатической нервной системы и развития спастических изменений артериолярного звена. Состояние мышечного тонуса прекапилляров оценивалось по амплитуде колебаний в М-диапазоне, которая также оказалась сниженной по сравнению с группой контроля. Миогенный тонус является одним из ведущих звеньев контроля микрокровотока непосредственно перед капиллярным руслом. Существует мнение, что миогенные колебания зависят от осцилляций ионов  $Ca^{2+}$  через мембрану гладкомышечных клеток, поэтому электролитные расстройства при ХБП также могут оказать влияние на формирование микроциркуляторных нарушений на поздних стадиях заболевания.

При морфологическом исследовании биоптатов из бронхиального дерева у больных ХБП было выявлено, что в большей степени структурной перестройке подвергается слизистая и подслизистая оболочки бронхов, в связи с чем было проведено их более детальное изучение. Одним из первичных признаков морфологической перестройки являются изменения в клеточных элементах, обеспечивающих мукоцилиарный клиренс. Нарушения последнего связаны с изменением реснитчатых и бокаловидных клеток, при этом в зависимости от длительности заболевания изменяется вначале их соотношение в сторону увеличения объемной плотности бокаловидных клеток, а в последующем

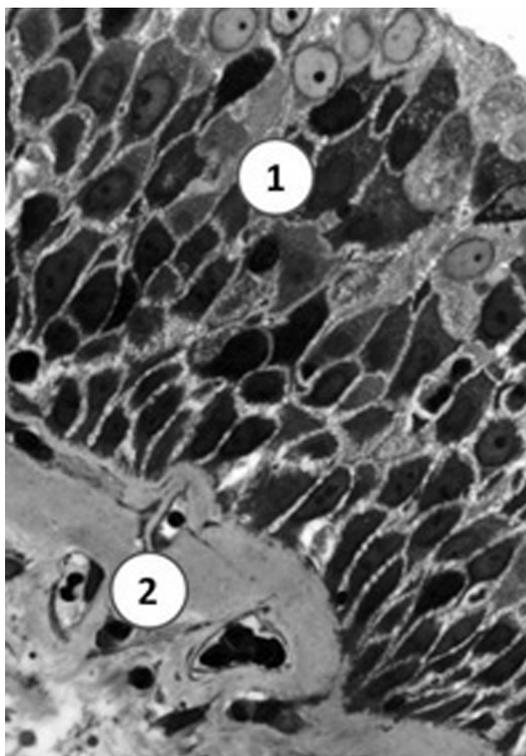


Рис. 1. Многослойный эпителий бронхов у больных ХБП. 1 — Увеличение количества клеток полигональной формы интенсивно окрашивающиеся метиленовым синим. 2 — Утолщенный базальный слой с кровеносными капиллярами.

Полутонкий срез. Увеличение  $\times 520$

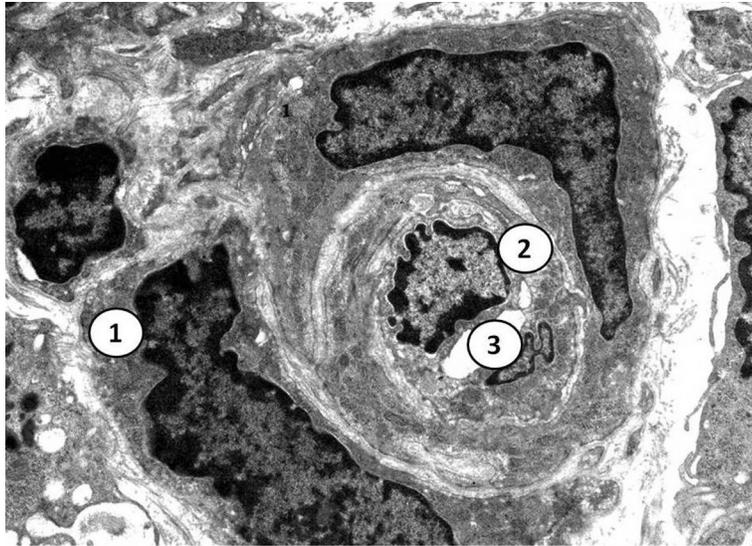
Микрогемоциркуляторные расстройства приводят к нарушению обменных процессов в клетках слизистой оболочки бронхов, гипоксии тканей, что способствует возникновению воспалительного процесса в бронхиальном дереве. Как результат длительного течения ХБП, наличия персистирующего вторичного двустороннего диффузного эндобронхита, у 5,3% больных морфологическая картина осложнилась присоединением инфекции.

Была дана морфологическая интерпретация функциональным показателям, полученным при ЛДФ. Выявленное при ЛДФ снижение нутритивного кровотока на начальных стадиях ХБП соответствовало появлению признаков отека в соединительной ткани подслизистой основы бронхов. При этом расстояние между коллагеновыми и эластическими волокнами возрастало, в этих зонах снижалась электронная плотность. Коллагеновые волокна приобретали хаотичное направление, часть их теряла поперечную исчерченность. Возрастало число различных по толщине эластических волокон, расположенных группами около базального слоя эпителия, окружавших спазмированные кровеносные капилляры и расширенные вены. В просвете последних выявлялись многочисленные форменные элементы крови, что свидетельствовало о ее стазе (рис. 2, 3). Были выявлены непосредственные повреждения эндотелиальных клеток,

происходит их постепенная замена клетками, характерными для многослойного эпителия (рис. 1).

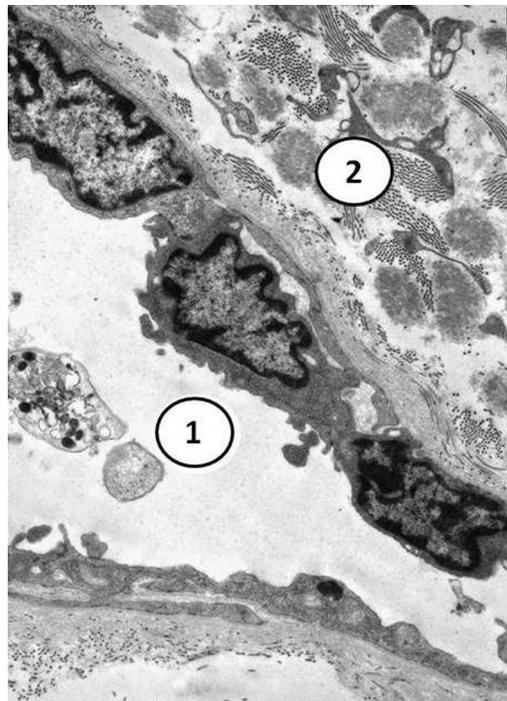
В связи с этим нами были выделены 5 форм строения эпителия бронхов у больных ХБП.

Нормальный план строения слизистой оболочки бронхов выявлен в 16,6% случаев, преимущественно на начальных стадиях ХБП. По мере прогрессирования заболевания морфологическая картина характеризовалась увеличением числа бокаловидных клеток, находящихся в стадии гиперсекреции (33,3%). У больных 2 и 3-й стадий ХБП при гистологическом исследовании биоптатов в 25,4% случаев определялись признаки начальной плоскоклеточной метаплазии эпителия. Окончательная перестройка в многослойный плоский эпителий отмечалась у 5,3% больных. Характерно, что в 19,4% случаев выявлена атрофия эпителия на фоне выраженных склеротических изменений в подслизистой оболочке, что имело место у большинства пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности. Дистрофия и метаплазия эпителия сочеталась в 50% с редукцией микроциркуляторного русла и гиперфункцией бронхиальных желез.



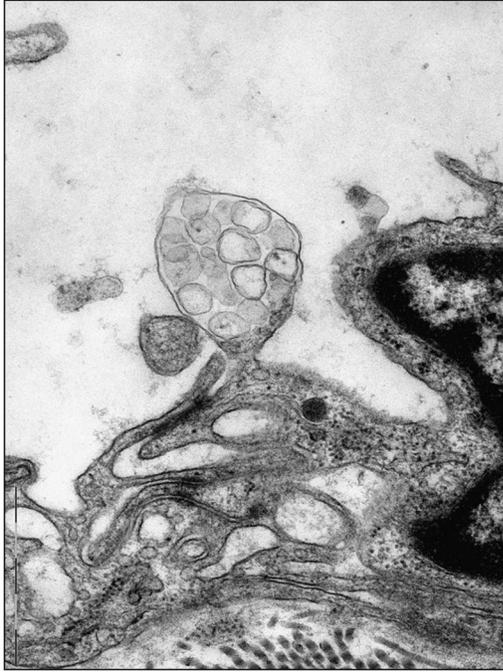
*Рис. 2.* Собственная пластинка слизистой оболочки бронха у больных ХБП.

Поперечный срез артериолы (2), диаметр (3) которой значительно уменьшен в связи с сокращением гладкомышечных клеток (1) наружной оболочки сосуда. Заливка аралдит, эпон. Окраска: уранил ацетат, цитрат свинца. Увеличение: 3000



*Рис. 3.* Собственная пластинка слизистой оболочки бронха у больных ХБП.

Продольный срез венулы, диаметр которой значительно расширен (1). Вокруг венулы увеличено количество коллагеновых и эластических волокон (2). Заливка аралдит, эпон. Окраска: уранил ацетат, цитрат свинца. Увеличение: 3500



*Рис. 4.* Вакуолизация поверхности эндотелиальных клеток капилляров подслизистой оболочки бронхов у больных ХБП. Заливка аралдит, эпон. Окраска: уранил ацетат, цитрат свинца. Увеличение: 30000

которые увеличивались в размере, содержали многочисленные вакуоли в цитоплазме, нередко образовывали выпячивания в просвет сосуда (см. рис. 3, 4).

Часть клеток соединительной ткани подвергалась дегенеративным изменениям. В ряде случаев выявлялись зоны жировой дистрофии, различные по размеру липидосодержащие клетки в соединительной ткани подслизистой оболочки бронха.

По мере прогрессирования заболевания происходила трансформация эпителия в многослойный плоский, а в подслизистой оболочке выявлялись очаги значительных склеротических перерождений. Завершившаяся перестройка эпителия в многослойный плоский с выраженным склерозом подслизистой оболочки была наиболее характерна для больных ХБП с длительностью заболевания более 10 лет.

**Обсуждение.** Изучение особенностей функционирования микроциркуляторного русла в условиях почечной недостаточности является важным концептуальным подходом в диагностике и прогнозировании течения заболевания.

Безусловно, атеросклеротическое поражение сосудов крупного калибра при ХБП является предиктором возникновения сердечно-сосудистых осложнений, однако развитие микрогемодинамических нарушений, имеющих системный характер, существенно влияет на формирование полиогранной патологии. При ХБП формируется дисбаланс между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов, с одной стороны, и вазоконстриктивных, протромботических, пролиферативных факторов — с другой [14].

В условиях сниженной выделительной функции почек формируются нарушения функциональной активности сосудов микроциркуляторного русла бронхов, которые на более поздних стадиях ХБП сочетаются с их морфологической перестройкой. Течение ХБП сопровождается нарушением как активных механизмов регуляции микроциркуляции — эндотелиальных, миогенных и нейрогенных, что свидетельствует о непосредственном поражении сосудистой стенки и ее нейромышечной регуляции, так и пассивных факторов модуляции кровотока, реализующихся за счет изменения объема пульсовой волны в артериолах и присасывающего действия «дыхательного насоса» в венах.

Ряд факторов, имеющих важное значение в патогенезе ХБП, приводят к изменению сосудов микроциркуляторного русла слизистой и подслизистой оболочек бронхов и нарушению деятельности мукоцилиарного клиренса воздухоносной части легких. Под их воздействием происходит сначала функциональная, затем структурная перестройка микроциркуляторного русла, которая сопровождается спазмами артериол с появ-

лением расширенных венул. Нарушение перфузии приводит к снижению доставки питательных веществ и кислорода в ткани, что влечет за собой развитие тканевой гипоксии, увеличению количества коллагеновых и эластических волокон и формированию фибротических процессов. Кроме того, склеротические изменения сопровождаются деградацией тучных клеток, что еще в большей степени усугубляет нарушение трофики тканей.

Существует вероятность, что выявленные нами нарушения функции и структурной целостности эндотелия кровеносных сосудов микроциркуляторного русла являются важными факторами, вызывающими реорганизацию слизистой и подслизистой оболочек бронхов у больных ХБП.

Таким образом, длительное течение ХБП вызывает изменение архитектоники микрососудистого русла бронхов и развитие фибротических и склеротических процессов в сосудистой стенке, которые являются основными факторами в развитии трофических нарушений в слизистой оболочке бронхов и снижении активности мукоцилиарного аппарата, способствующих усугублению гипоксии и присоединению вторичной инфекции.

### Литература

1. *Крупаткин А. И., Сидоров В. В.* Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. М.: «Медицина», 2005. 256 с.
2. *Александров П. Н., Еникеев Д. А.* Методы исследования микроциркуляции. Уфа: Диалог, 2004. 302 с.
3. *Levey A. S., Stevens L. A., Coresh J.* Conceptual model of CKD: applications and implications // *Am. J. Kidney. Dis.* 2009. Vol. 53. P. 4–16.
4. *Lahera V., Goicoechea M., de Vinuesa S. G.* et al. Oxidative stress in uremia: the role of anemia correction. // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006. Vol. 17, N 12. P. 174–177.
5. *Costa-Hong V., Bortolotto L. A., Jorgetti V.* et al. Oxidative stress and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. // *Arq. Bras. Cardiol.* 2009. Vol. 92, N 5. P. 381–386, 398–403, 413–418.
6. *Rubbo H., Darley-Usma V., Freeman B. A.* Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. // *Chem. Res. Toxicol.* 1996. P. 809–820.
7. *Michael T., Felon O.* Nitric oxide synthase: which, where, how, and why? // *J. Clin. Invest.* 1997. Vol. 100. P. 2146–2152.
8. *Wu-Wong J. R.* Endothelial dysfunction and chronic kidney disease: treatment options // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 2008. Vol. 9, N 9. P. 970–982.
9. *Krenning G., Dankers P. Y., Drouwen J. W.* et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in patients with progressive chronic kidney disease // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2009. Vol. 296, N 6. P. 1314–1322.
10. *Ueda S., Matsumoto Y., Kaida Y.* et al. Endothelial injury and CKD // *Nippon Rinsho.* 2008. Vol. 66, N 9. P. 1634–1638.
11. *Zoccali C.* The endothelium as a target in renal diseases // *J. Nephrol.* 2007. Vol. 20, N 12. P. 39–44.
12. *Yilmaz M. I., Saglam M., Caglar K.* et al. The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine // *Am. J. Kidney Dis.* 2006. Vol. 47, N 1. P. 42–50.
13. *Покровский В. И.* Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства / *Терапевтический архив.* 2005. № 1. С. 82–88.
14. *Zoccali C.* Endothelial dysfunction in CKD: a new player in town? // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008. Vol. 23, N 3. P. 783–785.