

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

БАРХИНА Т.Г., МИХАЛЕВА Л.М., ГОЛОВАНОВА В.Е., ГУЩИН М.Ю., ЧЕРНИКОВ В.П.

## ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF CELLS OF THE GASTRIC MUCOSA AT ASTHMA

BARKHINA T.G., MIKHALEVA L.M. GOLOVANOVA V.E., GUSHCHIN M.YU., CHERNIKOV V.P.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» РАН (директор – профессор Л.В. Кактурский), г. Москва.

Бронхиальная астма является многофункциональной патологией, в основе которой лежат клеточно-гуморальные механизмы развития повреждений различных органов и тканей. Наиболее часто вовлекаются в этот патологический процесс органы пищеварительной системы. Цель исследования – изучение ультраструктурных особенностей клеток слизистой оболочки желудка как центрального органа пищеварения и имеющего большее количество различных популяций клеток, участвующих в разных его функциях, при бронхиальной астме различной степени тяжести. Материалом для исследования послужили биоптаты желудка 19 пациентов с контролируемой бронхиальной астмой легкой степени тяжести, 15 пациентов с бронхиальной астмой средней степени тяжести и 12 пациентов с тяжелой степенью. Полутонкие срезы изучали на световом бинокулярном микроскопе с цифровым анализатором, ультратонкие срезы исследовали на трансмиссионном электронном микроскопе. В статье представлены результаты исследования ультраструктурных нарушений клеток желудка при бронхиальной астме. Авторами установлено, что при разной степени тяжести бронхиальной астмы наблюдаются характерные для каждой группы нарушения в эпителиальных, секреторных клетках, и клетках собственной пластинки слизистой оболочки. Выявлено, что комплексная базисная терапия бронхиальной астмы средней степени тяжести оказывает мембран-стабилизирующее воздействие на клетки слизистой оболочки, но во всех группах прослеживаются ультраструктурные изменения органелл, как в проксимальных, так и в дистальных отделах желудка. Представлены некоторые ультраструктурные доказательства процессов клеточно-тканевого ремоделирования разных отделов желудка при бронхиальной астме.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, слизистая оболочка желудка, ультраструктурная патология, ремоделирование.

The asthma is a multi-functional pathology, which is based on cellular and humoral mechanisms of the damage to various organs and tissues. Most often the digestive system is involved in this pathological process. The aim of the research was investigate ultra-structural features of cells of the gastric mucosa as the central organ in the digestive and having more different populations of cells involved in different functions in the asthma of varying severity. The material for the study was the biopsy specimens of the stomach from 19 patients with controlled asthma mild, from 15 patients with bronchial asthma of moderate severity and from 12 patients with a severe degree. Semi-thin sections were examined on a optic binocular microscope with the digital analyzer; ultra-thin sections were examined on a transmission electron microscope. The article present results of ultra-structural studies of disorders of stomach cells at the bronchial asthma. Authors found that at different severity of asthma observed characteristic for each group of abnormalities in epithelial secretory cells and in cells of the lamina propria of the mucous membranes. It is revealed that integrated basic therapy of bronchial asthma of moderate severity has a membrane-stabilizing effect on the cells of the mucosa, but in all groups can be traced ultra-structural changes of organelles in the proximal and in the distal stomach. In article presents some ultra-structural evidence of the cell-tissues remodeling process in different parts of the stomach in the bronchial asthma.

**Key words:** bronchial asthma, stomach mucosa cells, ultra-structural pathology, remodeling

**Введение.** Бронхиальная астма (далее - БА) является многофункциональной патологией, в основе которой лежат клеточно-гуморальные механизмы развития повреждений различных органов и тканей [1, 2, 3]. Вместе с этим БА является ведущим аллергическим заболеванием дыхательных путей, при котором системно вовлечены клетки органов пищеварительной системы, слизистых оболочек смежных органов и кожных покровов. Этому имеются клинические доказательства. Однако морфологические особенности изменений

клеток органов пищеварительной системы при БА изучены весьма схематично, а субмикроскопические критерии различных степеней тяжести заболевания практически отсутствуют. Следует отметить, что частота воспалительного поражения органов пищеварительной системы, по данным литературы, в структуре поражений систем и тканей при БА составляет значительный объем [3, 4]. Вовлечение в процесс различных систем организма, имеющих сходные филогенетические корни и пограничную гистопографию, к которым в полной мере можно отнести желудок, вполне объяснимо, но комплексные морфологические доказательства этому процессу отсутствуют. Нами ранее были предприняты попытки исследовать эти процессы на ультраструктурном уровне в слизистых оболочках пищевода и двенадцатиперстной кишки [5, 6], продемонстрировавшие органную специфичность изменений в этих органах. Однако, исследуя слизистую оболочку желудка при БА разной степени тяжести, авторы пришли к выводу, что данная область имеет наибольшую выраженность изменений.

Кроме того, повреждения органов пищеварения в динамике БА имеют ряд особенностей, которые могут способствовать как развитию аллергических заболеваний, так и провоцировать их обострение и прогрессирование [7, 8, 9]. В то же время на состояние слизистых оболочек органов пищеварительного тракта влияет не только само течение аллергического процесса, но и лекарственная терапия, выбор которой зависит от степени тяжести и вида основного заболевания.

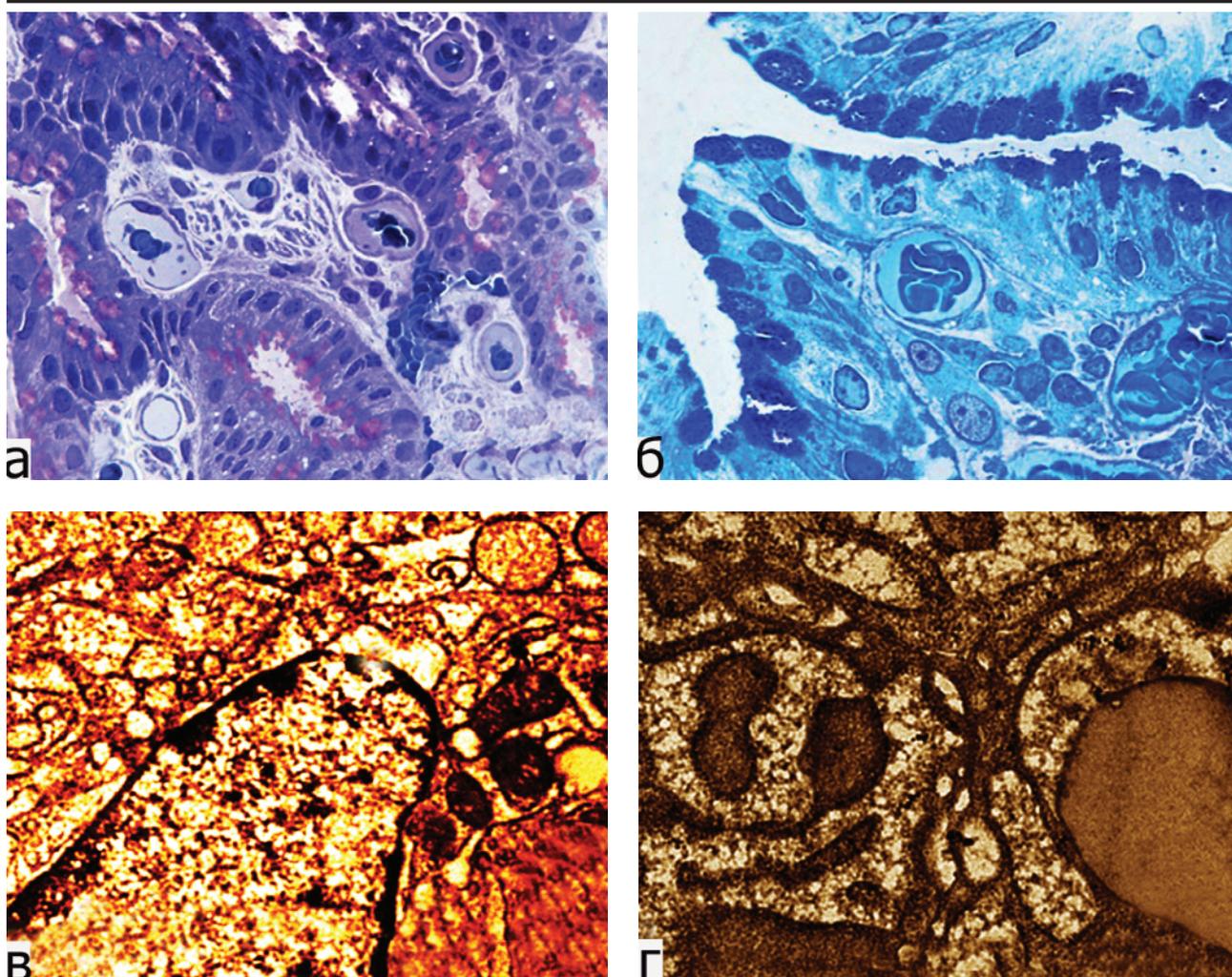
В современной литературе недостаточно освещены вопросы клеточной биологии слизистых оболочек органов пищеварительного тракта, как единой системе взаимозависимых тканей. Важным объектом изучения морфологических аспектов БА является триада изменений, которые описаны как «ремоделирование» слизистых оболочек дыхательных путей. Это утолщение и расслоение базальной мембраны, отложение коллагена, изменение соотношения эпителиальных и бокаловидных клеток с увеличением доли последних, гипертрофия гладких мышц бронхов и неоангиогенез. В отличие от дыхательной системы изучению базальных мембран слизистых оболочек органов пищеварения, поддерживающих структуру эпителиального пласта, дифференцировку клеток эпителия и их регенерацию, посвящено незначительное число исследований.

**Цель исследования** – изучение ультраструктурных особенностей клеток слизистой оболочки желудка, как центрального органа пищеварения и имеющего большее количество различных популяций клеток, участвующих в разных его функциях, при БА различной степени тяжести.

**Материал и методы исследования.** Было проведено комплексное клиничко-морфологическое исследование 19 пациентов с контролируемой БА лёгкой степени тяжести (1 группа), 15 пациентов с БА средней степени тяжести (2 группа) и 12 пациентов с тяжелой БА (3 группа). Первая группа пациентов получала терапию ингаляционными бронхолитиками. Во второй группе в базовой терапии помимо бронхолитиков длительно использовались ингаляционные глюкокортикостероиды (далее - ГКС), что в плане системного действия не превышало физиологических доз. В третьей группе использовались ингаляционные бронхолитики, ингаляционные и системные ГКС.

Для оценки морфофункционального состояния слизистой оболочки желудка (далее – «Ж») обследуемым пациентам в период стойкой ремиссии по показаниям проводилась диагностическая эзофагогастродуоденоскопия с биопсией его слизистой оболочки. Полученный материал фиксировали в смеси 2,5% раствора глутарового альдегида и 4% формальдегида на фосфатном буфере и далее фиксировали в растворе четырёхоксида осмия. После отбраковки и дегидратации проводили заливку в вестопал «W» по стандартной методике. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-III (Швеция), полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим и просматривали под световым бинокулярным микроскопом DLMB с цифровой камерой и анализатором изображения (Leica), а ультратонкие – дополнительно контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе Libra 120 (Karl Zeiss).

**Результаты исследования и их обсуждение.** При изучении полутонких срезов выявлены структурные изменения, характерные для биопсий всех трех групп пациентов, но имеющие морфологические характерные черты. Полутонкие срезы препаратов, полученных у пациентов 1-й группы, имеют умеренную гиперплазию слизистых клеток фундального отдела желудка с атрофическими и деструктивными поражениями эпителия, везикуляцией апикальной части цитоплазмы, изменение сосудов истончение эндотелиальных клеток, расширение просветов сосудов (рис. 1а). В некоторых участках наблюдается нарушение целостности цитоскелета и чередование «светлых» и «темных» эпителиоцитов. Наряду с повреждениями различных клеточных популяций эпителия, их везикуляцией и истончением часто встречаются изменения в сосудах микроциркуляторного русла (далее - МЦР) собственной пластинки слизистой оболочки (далее - СПСО) и подслизистой основы, наблюдаются атрофические и деструктивные поражения эпителия, микроэрозии, десквамация эпителия, нарушение целостности цитоскелета,



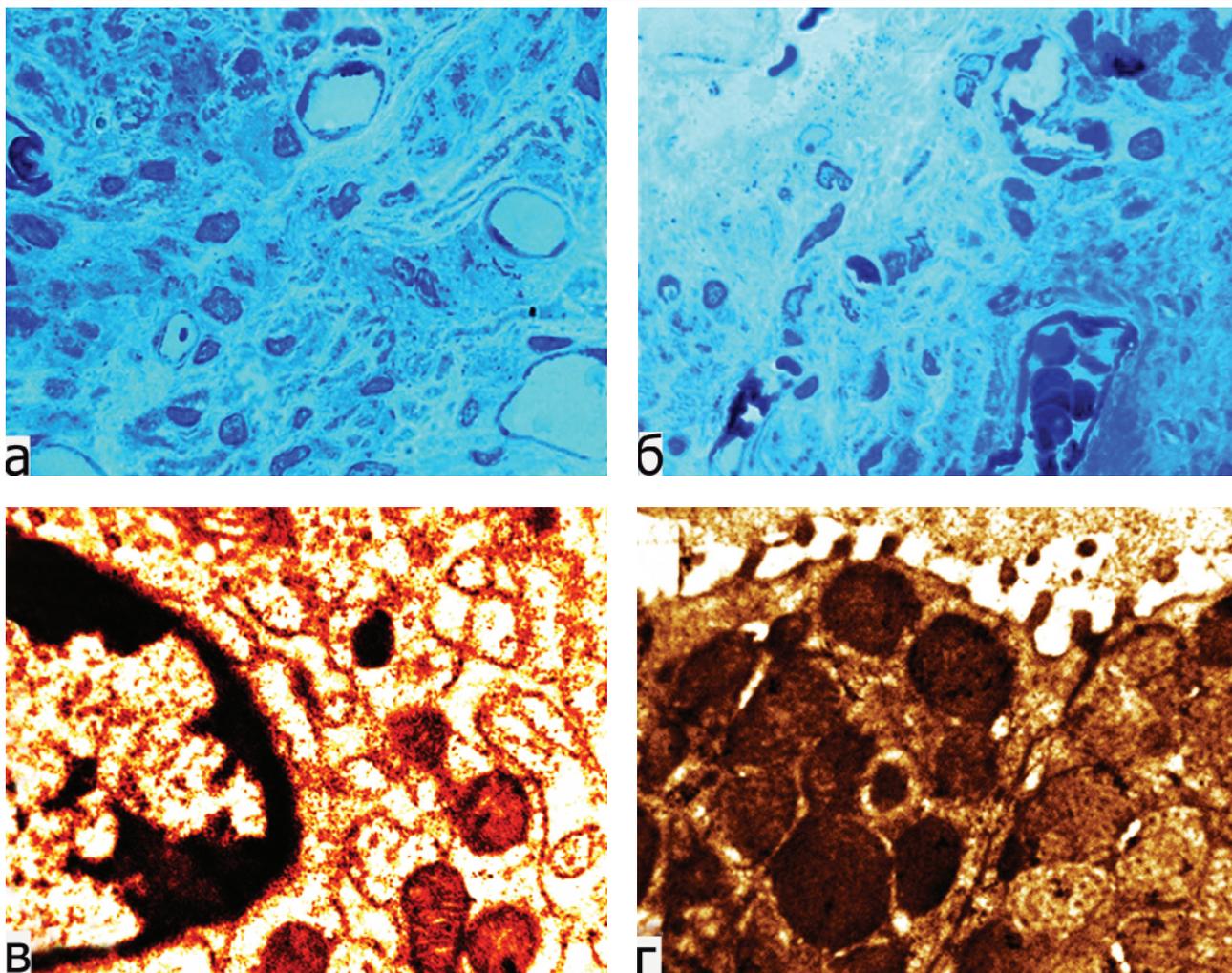
**Рис. 1.** Биоптаты слизистой оболочки желудка пациентов 1-й группы наблюдений. Окраска толуидиновым синим (а, б). Ув. 1200; ТЭМ (в). Ув. 8000; ТЭМ (г). Ув. 12000.

чередование «светлых» и «темных» клеток. В подэпителиальном слое определяются макрофаги, фибробласты (рис. 1 б). При большом увеличении наблюдались изменения в апикальной части эпителиоцитов, просветления цитоплазмы, расширения межклеточных пространств. Встречались интраэпителиальные лимфоциты, плазмоциты и макрофаги.

У пациентов 1-й группы ультраструктурные изменения наблюдаются во всех клеточных популяциях эпителия и характеризуются как общими чертами, так и особыми, характерными только для клеток Ж повреждениями. Такими изменениями являются общая вакуолизация цитоплазмы эпителиоцитов с дезорганизацией и фрагментацией микрофиламентов; нарушения ядер - расширение перинуклеарных пространств и ядерных пор, резкая конденсация хроматина, (рис. 1в). Значительные изменения наблюдаются и в энергетической системе эпителиоцитов: наличие юных и гиперосмированных форм митохондрий, образование

мультивезикулярных телец; резкое расширение цистерн ГЭР с дегрануляцией (рис. 1г). И, наконец, именно в эпителиальных клетках Ж нами зафиксированы различные нарушения ядер - расширение перинуклеарных пространств и ядерных пор, резкая конденсация хроматина, готовность к апоптозу. К общим изменениям, характерным для всех эпителиальных клеток органов пищеварительной системы, следует отнести наличие липидных гранул различной величины и формы, расширение ГЭР с инвагинациями и дегрануляцией. В СПСО наблюдались значительные изменения в сосудах МЦР: расширение просвета сосудов, стаз и сладж эритроцитов, резкое истончение эндотелиальных клеток, пристеночное стояние тромбоцитов, а также их присутствие в периваскулярном пространстве в тесной близости с тучными клетками, макрофагами и гранулоцитами.

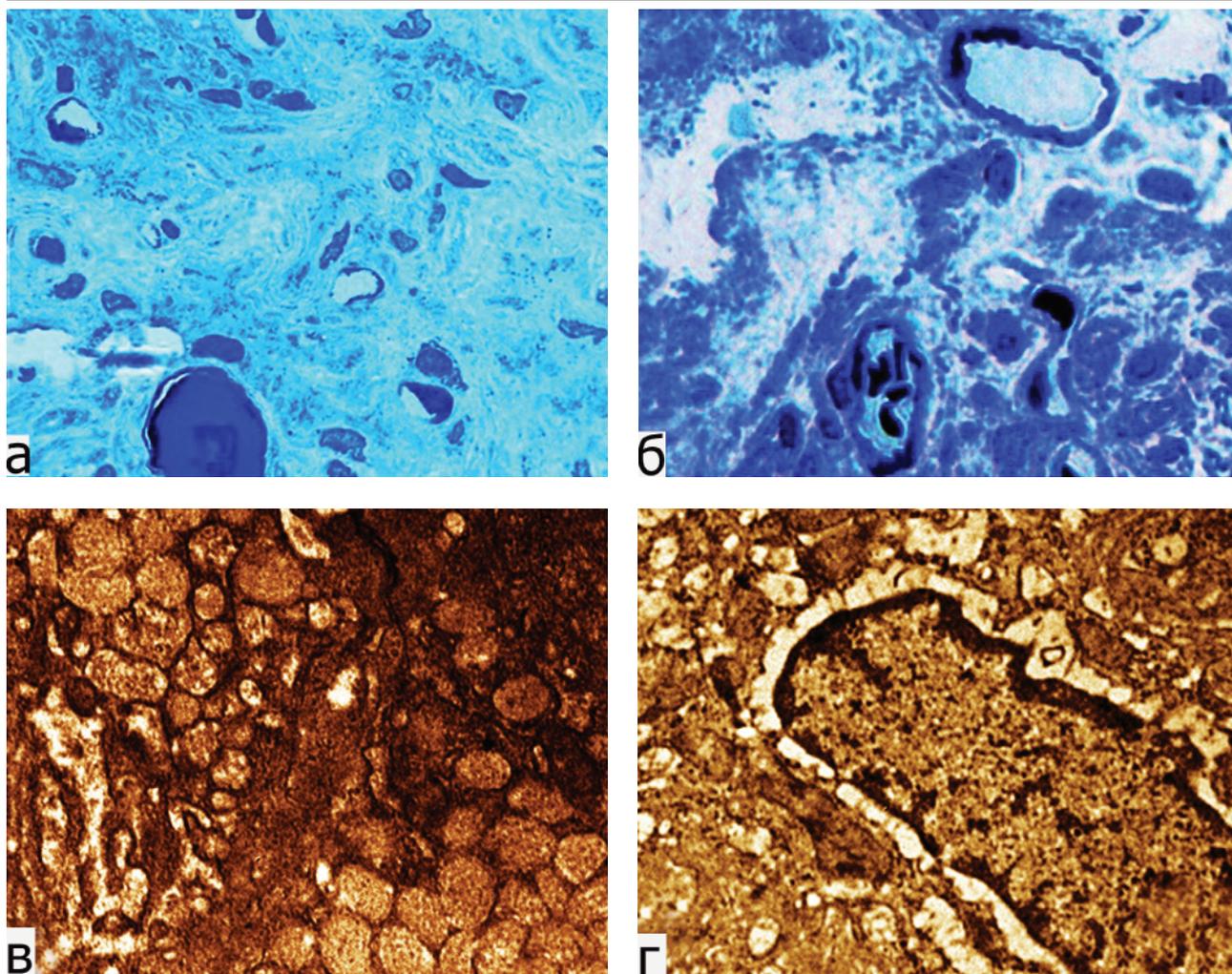
При изучении полутонких срезов биоптатов Ж 2-й группы наблюдений были отмечены значительные локусы отёка в слизистой оболочке, а в



**Рис. 2.** Биоптаты слизистой оболочки биоптатов желудка пациентов 2-й группы наблюдений. Окраска толуидиновым синим (а, б). Ув. 1200; ТЭМ (в). Ув. 12000; ТЭМ (г). Ув. 8000.

отдельных участках – атрофия эпителия; расслоение базальной мембраны, резкое расширение просветов сосудов; в периваскулярном пространстве определялись единичные фибробласты и макрофаги (рис. 2 а, б). В СПСО наблюдалось истончение эндотелия сосудов МЦР с краевым стоянием тромбоцитов, отёком периваскулярных пространств со свободно расположенными тучными клетками, базофилами и макрофагами. При ультраструктурном анализе микрофото препаратов, полученных от пациентов 2-й группы наблюдений практически во всех изученных популяциях клеток обнаруживались более выраженные деструктивные изменения ядер с резкой конденсацией хроматина; резкое расширение цистерн ГЭР с дегрануляцией и вакуолизацией, появлением окаймленных везикул; гиперосмированных форм митохондрий (рис. 2в). Как в glanduloцитах, так и в париетальных клетках наибольшим изменениям подвергается ГЭР, причём во многих клетках проявляются его резкие изменения с дегрануля-

цией, вплоть до полного исчезновения рибосом на мембранах с появлением свободных моно- и полисом. Признаки гиперплазии и гипертрофии слизистых клеток, гетерогенность секреторных гранул, явления гиперсекреции наиболее заметны в препаратах этой группы пациентов, что проявляется и появлением смешанных экзокринных секреторных клеток (рис. 2г). Кровеносные сосуды МЦР изменялись по-разному: некоторые из них характеризовались истончением эндотелиоцитов с краевым стоянием тромбоцитов; другие – резким утолщением стенок сосудов, гиперплазией и гипертрофией коллагеновых фибрилл и расширением периваскулярного пространства. Значительные ультраструктурные изменения наблюдаются не только в эпителиоцитах, но и других популяциях клеток, особенно в тучных клетках, как в стадии накопления секрета, так и при экстружии. В отдельных париетальных клетках наблюдались локальные очаги внутриклеточного некроза и преапоптоза. В слизистых клетках отмечены признаки



**Рис. 3.** Биоптаты слизистой оболочки биоптатов желудка пациентов 3-й группы наблюдений. Окраска толуидиновым синим (а, б). Ув. 1200; ТЭМ (в). Ув. 8000; ТЭМ (г). Ув. 12000.

гипертрофии и гиперплазии, гетерохромность секреторных гранул, явления гиперсекреции, также наблюдались участки клазматоза и микроклазматоза. Особенностью этой группы является наличие смешанных форм экзокринных клеток.

На полутонких срезах в препаратах гастробиоптатов 3-й группы пациентов выявлены признаки истощения компенсаторных защитных механизмов слизистой оболочки, развитие атрофических, деструктивных и склеротических процессов. Особо следует отметить уплощение эпителиальных клеток, их дезорганизацию, фрагментацию, отечность, а также большое количество макрофагов и лимфоцитов в СПСО (рис. 3 а, б). При электронной микроскопии в 3-й группе наблюдений отмечены процесс тотального образования фагосом, цитофагосом и цитолизофагосом во всех типах клеток. В клетках слизистой оболочки наблюдается дезорганизация апикальных мембран, отёк и расширение межклеточного пространства, исто-

щение слизи продуцирующих функций (рис. 3в).

Кроме этого, усиливаются выраженные нарушения ядер и околоядерных зон: расширение перинуклеарного пространства, вычурность очертаний ядер, перераспределение эу- и гетерохроматина. В парануклеарной зоне наблюдаются участки локального некроза, цитофагосомы (рис. 3г). В перинуклеарном пространстве наблюдаются участки локального некроза. Были выявлены дисконкомплексация крист митохондрий, деградация ГЭР, отёк этих органелл и расширение межклеточного пространства.

**Заключение.** Таким образом, при изучении полутонких срезов слизистой оболочки Ж выявлены общие структурные изменения, характерные для всех групп обследуемых. Однако, степень тяжести заболевания накладывает характерные черты. Существенными из них можно считать повреждение апикальной части клеток покровного эпителия, просветления цитоплазмы, расшире-

ния межклеточных пространств до значительных размеров. Нами наблюдалось значительное количество интраэпителиальных лимфоцитов и макрофагов. Структурные изменения наблюдались во всех секреторных клетках, но особо следует выделить присутствие смешанных экзокринных клеток. У пациентов 1-й группы эти клетки встречались реже, чем у пациентов 2-ой группы. Известно, что смешанные экзокринные клетки выполняют функции, как простых слизистых клеток, так и клеток Паннета, секреторирующих эндогенный лизоцим. Можно предположить, что происходит подавление лизоцимной активности содержимого желудка у 2-й группы пациентов, поскольку установлена прямая взаимосвязь между количеством клеток Паннета и лизоцимной активностью дуоденального содержимого [3]. Также в некоторых случаях наблюдений обнаружено увеличение количества смешанных экзокринных клеток с их дегрануляцией наряду с увеличением числа тучных клеток. Усиление ультраструктурных изменений у пациентов 3-й группы, несмотря на проведенное им лечение, свидетельствует не только о метаболических нарушениях, но и о вовлечении процессов адаптационного характера, выраженных в повреждениях ядер и околядерных структур различных видов эпителиальных клеток.

Выявленные при трансмиссионной электронной микроскопии изменения в клетках слизистой оболочки Ж свидетельствуют о нарушении процессов всасывания, фильтрации и усвоения питательных веществ. Реакция всех секреторных клеток на повреждение в виде компенсаторного повышения секреторной функции была выражена как в слизистой оболочке Ж, так и двенадцатиперстной кишки, аналогично таковой в органах дыхательной системы при БА [10, 11, 12]. Во многих клетках слизистой оболочки Ж наблюдалось расширение терминальной зоны, перераспределение органелл по цитоплазме, обнаружены липидные капли и гранулы разного размера. Утолщение и расслоение базальной мембраны, отложение электронноплотных иммунных комплексов в тесной взаимосвязи с коллагеновыми фибриллами, расширение межмембранного пространства соответствуют характерным признакам ремоделирования стенок бронхов при БА. Подобные явления нами обнаружены и при изучении слизистой оболочки Ж. Выявленные ультраструктурные изменения клеток слизистой оболочки Ж свидетельствуют о нарушении метаболических функций при БА, ведущим к полной дисгармонии соотношения клеток, к нарушениям в них белкового и липидного обменов. Интересными и нуждающимися в более тщательном анализе морфологическими находками являются активация компенсаторных ресурсов в клетках слизистой

оболочки Ж второй группы при повреждении метаболических процессов, которые проявляются резкими изменениями во всех органеллах клеток. Выявленные морфологические изменения свидетельствуют об общем характере патологических процессов в слизистых оболочках при БА. Оценка и анализ выявленных ультраструктурных нарушений в клетках и субклеточных структурах слизистой оболочки Ж при БА подтверждает гипотезу о вовлечении в аллергический процесс различных систем организма и, в частности, органов пищеварения, что значительно утяжеляет как само течение заболевания, так и его прогноз.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Nemtsov V.I., Aleksandrova R. A., Magidov M. Ya. *Osobennosti bronkhial'noi astmy u bol'nykh s patologiei gastroduodenal'noi zony*// *Allergologiya.* – 2009. – № 4. – S. 18-21.
2. Barkhina T.G., Gushchin M. Yu., Gumenyuk S.A. *i soavt. Morfofunktsional'nye osobennosti mukotsiliarnoi sistemy dykhatel'nykh putei pri allergicheskom rinite i bronkhial'noi astme*// *Vestnik Tverskogo GU: Seriya «Biologiya i ekologiya».* – 2013. – Vyp. 29. – № 2. – S. 29-40.
3. Barkhina T.G., Mikhaleva L.M., Chernikov V.P. *i soavt. Ul'trastrukturnaya patologiya kletok slizistoi obolochki pishchevoda pri bronkhial'noi astme*// *Morfologicheskie vedomosti.* – 2013. – № 1. – S. 15-20.
4. Barkhina T.G., Mikhaleva L.M., Golovanova V.E. *i soavt. Submikroskopicheskie izmeneniya kletok slizistoi obolochki dvenadtsatiperstnoi kishki pri bronkhial'noi astme*// *Morfologicheskie vedomosti.* – 2014. – № 2. – S. 6-12.
5. Mikhaleva L.M., Barkhina T.G., Shchegoleva N.N. *i soavt. Strukturnye izmeneniya kapillyarov slizistoi obolochki zheludka i 12-ti perstnoi kishki pri bronkhial'noi astme.* // *Arkhiv Patologii.* – 2014. – Tom 76. – № 1. – S. 37-41.
6. Nepomnyashchikh D.L., Lapii G.A., Aidagulova S.V. *i soavt./ V kn.: Biopsiya v gastroenterologii: morfogenez obshchepatologicheskikh protsessov.* – Pod red. Nepomnyashchikh G.I. – M.: «Izdatel'stvo RAMN», 2010. – 433s.
7. Golovanova V.E., Barkhina T.G., Mikhaleva L.M. *i soavt. Kletochnye i vnutrikletochnye reaktsii dvenadtsatiperstnoi kishki pri persistiruyushchei bronkhial'noi astme legkoi i srednei stepeni tyazhesti*// *V kn.: Aktual'nye voprosy morfogeneza v norme i patologii: Sbornik nauchnykh trudov konferentsii.* – Moskva, 2012. – S. 33-38.
8. Mikhaleva L.M., Barkhina T.G., Shchegoleva N.N. *i soavt. Sravnitel'naya morfologiya slizistoi obolochki zheludka u patsientov s bronkhial'noi astmoi pri ingalyatsionnoi glyukokortikosteroidnoi terapii*// *Arkhiv patologii.* – 2013. – T. 75. – № 2. – S. 9-15.
9. Gushchin M. Yu., Golovanova V.E., Barkhina T.G.

*i soavt. Sravnitel'naya kharakteristika klinicheskikh i morfologicheskikh aspektov u patsientov razlichnogo vozrasta pri bronkhial'noi astme// Fundamental'nye issledovaniya. – 2011. – № 6. – S. 49-53.*

10. Gushchin M. Yu., Golovanova V.E., Barkhina T.G. *i soavt. Epidemiologicheskie i kliniko-morfologicheskie aspekty allergicheskogo rinita i bronkhial'noi astmy u patsientov razlichnogo vozrasta// Rossiiskii allergologicheskii zhurnal. – 2011. – № 4. – Vyp. 1. – S. 97-100.*

11. Pires GV, Souza HS, Elia CC, Zaltman C. *Small bowel of patients with asthma and allergic rhinitis: absence of inflammation despite the presence of major cellular components of allergic inflammation. Allergy Asthma Proc. 2012 Jul-Aug;25(4):253-9.*

12. Shirai T, Komiyama A, Hayakawa H. *Eosinophil-associated gastrointestinal disorders with asthma: immunohistochemical analyses. Intern Med. 2009;48(15):1315-21.*

**Авторская справка:**

Бархина Татьяна Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель группы клеточных взаимодействий ФГБНУ «НИИ морфологии человека» РАН, 117418, Москва,

ул. Цюрупы, д. 3., тел. 89057035035, e-mail: tbarkhina@mail.ru

Михалева Людмила Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории клинической морфологии ФГБНУ «НИИ морфологии человека» РАН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3., тел. 89036214457, e-mail: mikhalevalm@yandex.ru

Голованова Валентина Евгеньевна, научный сотрудник группы клеточных взаимодействий ФГБНУ «НИИ морфологии человека» РАН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3., тел. 89162280342, e-mail: golovanova-v-e@yandex.ru

Гущин Михаил Юрьевич, старший научный сотрудник группы клеточных взаимодействий ФГБНУ «НИИ морфологии человека» РАН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3., тел. 89163383483, e-mail: guschin.michail@yandex.ru

Черников Валерий Петрович, кандидат медицинских наук, руководитель лаборатории экспериментальной патологии клетки ФГБНУ «НИИ морфологии человека» РАН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3., тел. 84991200555, e-mail: tbarkhina@mail.ru