

РАЗДЕЛ 1 ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

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

SUBMICROSCOPIC CHANGES OF THE CELLS OF THE DUODENAL MUCOSA AT BRONCHIAL ASTHMA

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

ФГБУ НИИ морфологии человека РАМН (директор – профессор Л.В. Кактурский), Москва.

патология, ремоделирование

Бронхиальная астма является ведущей аллергической патологией, при которой в патологический процесс часто вовлекаются органы пищеварительной системы. В настоящее время отсутствует комплексное морфологическое исследование реакции слизистых оболочек органов желудочно-кишечного тракта на аллергическое повреждение и различные методы терапии бронхиальной астмы. Целью настоящего исследования было установление морфофункциональных и ультраструктурных особенностей клеток слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при бронхиальной астме различной степени тяжести. Материалом для исследования послужили биоптаты двенадцатиперстной кишки 19 пациентов с контролируемой бронхиальной астмой легкой степени тяжести, 15 пациентов с бронхиальной астмой средней степени тяжести и 12 пациентов с тяжелой бронхиальной астмой. Полутонкие срезы изучали на световом бинокулярном микроскопе с цифровым анализатором, ультратонкие срезы исследовали на трансмиссионном электронном микроскопе. Авторами установлено, что при разной степени тяжести бронхиальной астмы наблюдаются характерные для каждой группы статистически значимые морфологические нарушения в эпителиальных, секреторных клетках и клетках собственной пластинки слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Выявлено, что комплексная базисная терапия бронхиальной астмы средней степени тяжести оказывает мембраностабилизирующее воздействие на эпителиальные клетки двенадцатиперстной кишки. Обсуждается вероятность распространения процесса ремоделирования на органы желудочно-кишечного тракта при бронхиальной астме.

Ключевые слова: бронхиальная астма, двенадцатиперстная кишка, ультраструктурная

Asthma is the leading allergic disorder. Organs of the digestive system are often involved in this pathological process. There is currently no complex morphological research of the response of the mucous membranes of the gastrointestinal tract to allergic injury and to various methods of treatment of asthma. The aim of this study was to determine the morphological ultra structural features of the duodenal mucosa cells in bronchial asthma of varying severity. As a material for research we used duodenum biopsies of 19 patients with controlled mild asthma, 15 patients with asthma of moderate severity and 12 patients with severe asthma. Semi thin sections were studied in the light microscope with digital image analyzer. Ultra thin sections were examined by transmission electron microscope. It was established that statistically significant morphological violations in the secretors and epithelial cells of duodenum mucosa were observed for each group at different severity of bronchial asthma. It was revealed that complex basic therapy of bronchial asthma of moderate severity had a stabilizing effect on epithelial cells of duodenum. The possibility of extending the remodeling process on organs of the gastrointestinal tract in bronchial asthma is discussed.

Keywords: asthma, duodenum, ultra structural pathology, remodeling process

Введение. В последнее время у многих исследователей возникает закономерный интерес к изучению механизмов развития повреждений в различных органах и тканях при бронхиальной астме (БА) [1, 2, 3]. БА является ведущей аллергической патологией, при которой повреждению подвергаются не только дыхательные пути, но и органы пищеварительной системы, слизистые оболочки других органов, кожные покровы. Морфологические особенности изменений органов пищеварительной системы при БА изучены не в

полном объеме, хотя частота воспалительного поражения гастродуоденальной зоны, по данным литературы, достигает 70% [4, 5]. В результате клинических, экспериментальных и морфологических исследований при БА установлено вовлечение в процесс различных систем организма, имеющих сходные филогенетические корни и пограничную гистотопографию, к которым в полной мере можно отнести изучаемую дуоденальную зону [6, 7, 8]. Однако, отсутствует комплексное клеточное и субмикроскопическое исследование реакции эпителиальных тканей, участвующих в динамике аллергического воспаления, с клинико-морфологическим анализом этих процессов до лечения и после назначения различных методов терапии.

Повреждения органов пищеварения в динамике БА имеют ряд особенностей, которые могут способствовать как развитию аллергических заболеваний, так и провоцировать их обострение и прогрессирование [9, 10]. 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 недостаточное внимание уделяется вопросам 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 в пользу последних, гипертрофия гладких мышц бронхов и неоангиогенез. Одним из характерных признаков ремоделирования стенки бронхов при БА является утолщение и уплотнение базальных мембран. В отличие от дыхательной системы изучению базальных мембран слизистых оболочек органов пищеварения, обеспечивающих структурообразование эпителиального пласта, дифференцировку клеток эпителия и их регенерацию, в современных исследованиях не уделено внимания.

Цель исследования - изучить ультраструктурные особенности клеток слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (ДПК) при БА различной степени тяжести.

Материал и методы исследования. Было проведено комплексное клинико-морфологическое исследование 19 пациентов с контролируемой БА легкой 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 (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 ДПК обследуемым пациентам в период стойкой ремиссии по показаниям проводилась диагностическая эзофагогастродуоденоскопия с биопсией слизистой оболочки проксимального отдела двенадцатиперстной кишки. Полученный материал фиксировали в смеси 2,5% раствора глутаральдегида и 4% формальдегида на фосфатном буфере и далее фиксировали в растворе четырехоксида 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 их обсуждения. При изучении полутонких срезов выявлены структурные изменения, характерные для биопсий всех трех групп пациентов. Заметными из них можно считать различные повреждения в области ворсинок и крипт, клеток собственной пластинки слизистой оболочки (СПСО) и подслизистой основы. При большом увеличении наблюдались изменения в апикальной части каемчатых эпителиоцитов ворсинок, просветления цитоплазмы, расширения межклеточных пространств. Как в ворсинках, так и в криптах встречались интраэпителиальные лимфоциты, плазмоциты и макрофаги. Следует отметить, что в энтероцитах крипт, особенно в различных секреторных клетках изменения имели неравнозначный характер.

У пациентов 1-ой группы в большей степени была выражена гиперплазия и гипертрофия бокаловидных клеток с различными вариантами экстррузии секрета. Однако, структурные изменения наблюдались во всех секреторных клетках: бокаловидных, клетках Панета и смешанных экзокринных клетках (рис. 1а). Можно отметить, что у пациентов 1 группы клетки Панета встречались реже, чем у пациентов 2 группы. В СПСО наблюдались значительные изменения в сосудах микроциркуляторного русла (МЦР): расширение просвета сосудов, стаз и сладж эритроцитов, резкое истончение эндотелиальных клеток,

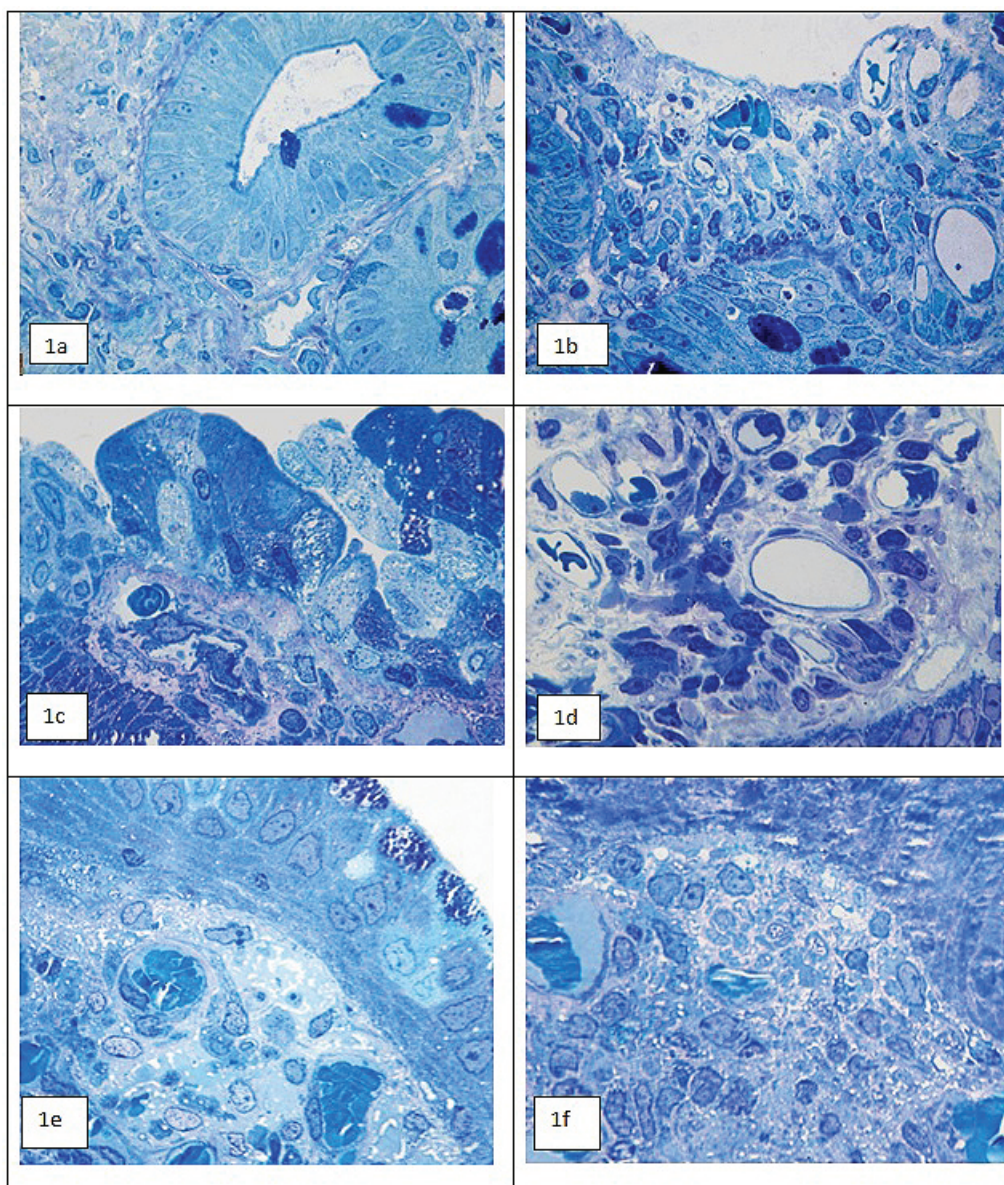


Рис. 1. Биоптаты слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при БА. Полутонкие срезы. Окраска толуидиновым синим. Ув. 1000.

пристеночное стояние тромбоцитов, а также их присутствие в периваскулярном пространстве в тесной близости с тучными клетками, макрофагами и гранулоцитами (рис. 1b).

При изучении полутонких срезов биоптатов 2 группы наблюдений были отмечены менее выраженные деструктивные процессы, чем в 1 группе. Это касается эпителиальных клеток, базальной мембраны и СПСО. Бокаловидные клетки наблюдались в основном в процессе накопления секреторных гранул (рис. 1c), при экстрוזии так же, как и в 1 группе отмечены различные секреторные варианты экстрוזии от мерокринового до микроапокринового типа. В СПСО наблюда-

лось меньшее количество макрофагов и тучных клеток. Кровеносные сосуды МЦР изменялись по-разному: некоторые из них характеризовались истончением эндотелиоцитов с краевым стоянием тромбоцитов; другие же – резким утолщением стенок сосудов (рис. 1d), гиперплазией и гипертрофией коллагеновых фибрилл и расширением периваскулярного пространства.

На полутонких срезах биоптаты 3 группы наблюдений выявлены признаки истощения компенсаторных защитных механизмов слизистой оболочки, развитие атрофических, деструктивных и склеротических процессов. Необходимо подчеркнуть, что в этой группе наблюдается

нарушение соотношений высоты ворсинок и глубины крипт. Увеличение количества интраэпителиальных клеток иммунного ряда сочетается со значительными изменениями во всех секреторных клетках: бокаловидных, клетках Панета и смешанных экзокриноцитов. Наблюдалось чередование «светлых» и «темных» клеток. В светлых клетках - отек цитоплазмы, резкая везикуляция (рис. 1e). В темных – гипертрофированность цитоплазмы, переполнение моно- и полисомами, перенасыщение органеллами. В подслизистой основе наблюдался отек с наличием клеток с просветленной цитоплазмой: макрофагами, тучными клетками, гранулоцитами. Здесь же, как и в СПСО встречалось большое количество гладкомышечных клеток и измененных сосудов МЦР с явлениями полнокровия (рис. 1f). Эти процессы можно рассматривать как своеобразный признак ремоделирования слизистой оболочки именно в 12-перстной кишке.

При электронной микроскопии отмечены везикуляции апикальной части цитоплазмы каёмчатых эпителиоцитов ворсинок. Микроворсинки деформировались, утолщались, дезорганизовывались, наблюдались процессы клазматоза. Значительным изменениям подвергались бокаловидные клетки, которые реагировали на повреждение компенсаторным повышением секреторной функции. Во многих клетках слизистой оболочки ДПК наблюдалось расширение терминальной зоны, перераспределение органелл по цитоплазме. Были обнаружены липидные капли и гранулы разного размера. Во всех группах наблюдений обнаружено утолщение и расслоение базальной мембраны. В 1-ой группе наблюдений при ТЭМ везикуляция апикальной части цитоплазмы каёмчатых эпителиоцитов была меньше, чем во 2-ой группе. Наблюдалась изменения в гранулярном эндоплазматическом ретикулуме (ГЭР) с расширением, вакуолизацией и дегрануляцией его компонентов. В ядрах отмечено расширение перинуклеарного пространства и ядерных пор, децентрализация ядрышка. В парануклеарной области – расширения с инвагинациями ГЭР, а также образование цитофагосом. Наряду с этим, в материалах 1-ой группы в отдельных каёмчатых эпителиоцитах и в бокаловидных клетках выявлена гиперплазия, а иногда и гипертрофия элементов комплекса Гольджи параллельно с гиперплазией моно- и полисом. Наличие гипертрофированных форм митохондрий подтверждает активность ультраструктурных и функциональных нарушений в клетках слизистой оболочки ДПК в 1 группе наблюдений (рис. 2a). В секреторных клетках наблюдались процессы как накопления секреторных гранул, так и их экстррузии. Помимо постоянной формы мерокриновой секреции,

наблюдалась микроапокриновая и апокриновая секреция. В смешанных экзокринных клетках встречался процесс слияния секреторных гранул и их экстррузия с частью цитоплазмы - явления клазматоза и микроклазматоза (рис. 2b).

Слизистая оболочка 2-ой группы характеризовалась большей гиперплазией и гетерохромностью секреторных гранул с различными вариантами экстррузии секрета (рис. 2c), увеличением количества смешанных форм секреторных клеток, наличием в них крупных липидных капель (рис. 2d). Следует отметить заметное увеличение количества клеток Панета, свидетельствующее об улучшении состояния эпителиального барьера ДПК. Усилению барьерной функции также способствует уплотнение боковых межклеточных контактов. На фоне выраженных компенсаторных защитных реакций слизеобразующих клеток во 2 группе обнаружены активные явления дегенерации каёмчатых эпителиоцитов, их гипертрофированность, признаки нарушения метаболических функций органелл. Усиленные секреторные процессы наблюдались на фоне явных признаков нарушенных функций всасывания.

Ультраструктурные изменения слизистой оболочки ДПК в 3-ей группе наблюдений включали в себя признаки активной дегенерации как каёмчатых эпителиоцитов, так и слизеобразующих клеток, уменьшение количества клеток Панета; выраженную отечность эпителиальных клеток, межклеточных пространств и СПСО (рис. 2e). При чередовании светлых и темных эпителиоцитов можно отметить следующее: в светлых отмечался отек цитоплазмы, резкая везикуляция, образование мультивезикулярных телец и миелопоподобных структур. В темных клетках - многочисленные моно- и полисомы по всей цитоплазме, темные, гипертрофированные митохондрии и изменения ядер: утолщение наружной ядерной мембраны и гипертрофирование перинуклеарного пространства (рис. 2f). В каёмчатых эпителиоцитах и бокаловидных клетках отмечены изменения ГЭР до его полной дегенерации, образование цитофагосом. Липидные капли не встречались, т.е. и этот компенсаторный механизм обменного характера себя исчерпал. Наблюдалось большое количество гипертрофированных эпителиальных клеток и клеток с признаками апоптоза.

Заключение. Таким образом, при изучении полутонких срезов слизистой оболочки ДПК выявлены структурные изменения, характерные для всех групп обследуемых. Заметными из них можно считать умеренные повреждения апикальной части каёмчатых эпителиоцитов ворсинок, просветления цитоплазмы, расширения межклеточных пространств, иногда до значительных размеров. Наблюдалось большое количество интраэпители-

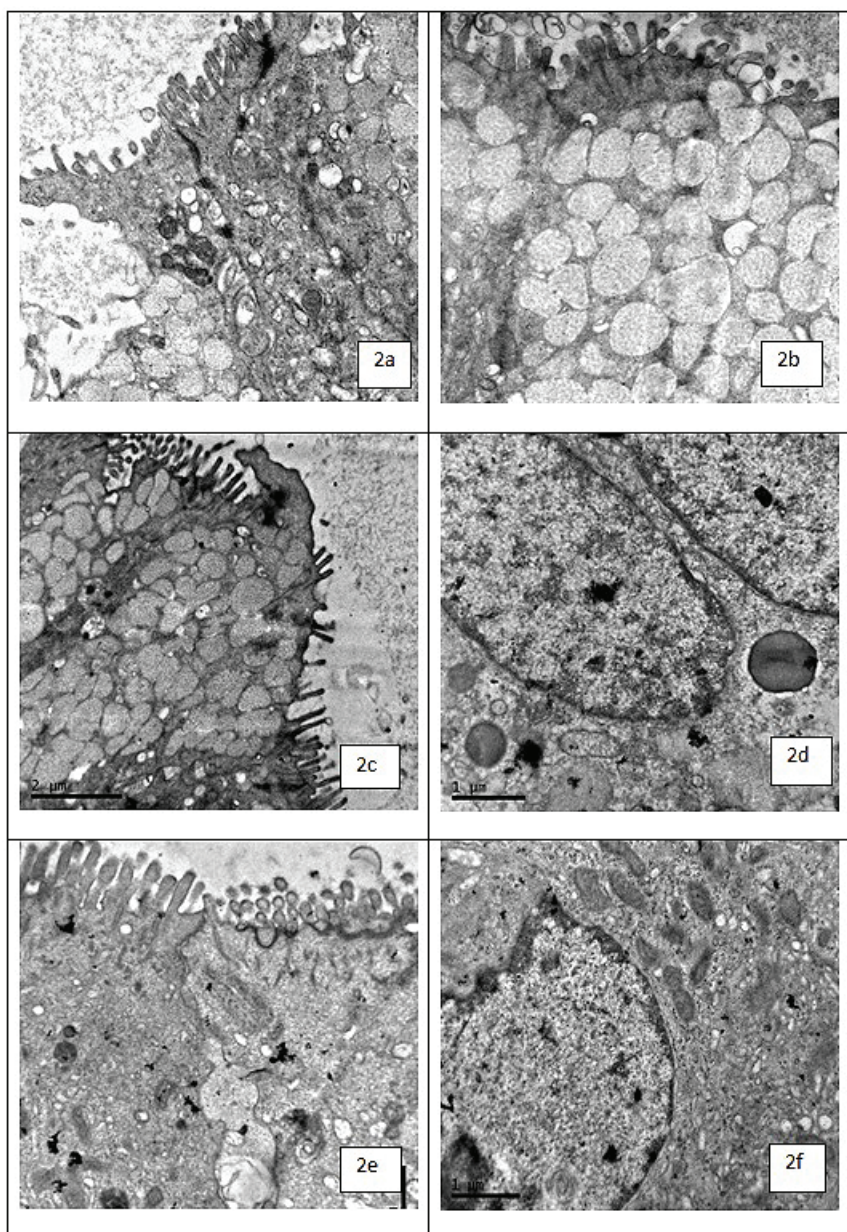


Рис. 2. Биоптаты слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при БА. Ультратонкие срезы. Ув. 10000.

альных лимфоцитов и макрофагов. Структурные изменения наблюдались во всех секреторных клетках: бокаловидных, клетках Панета и смешанных экзокринных клетках. Следует отметить, что у пациентов 1-ой группы клетки Панета встречались реже, чем у пациентов 2-ой группы. Известно, что клетки Панета секретируют эндогенный лизоцим, поэтому можно предположить подавление лизоцимной активности дуоденального содержимого у 2-ой группы больных, поскольку установлена прямая взаимосвязь между количеством клеток Панета и лизоцимной активностью дуоденального

содержимого. Также в некоторых наблюдениях обнаружено увеличение количества клеток Панета и их дегрануляция наряду с увеличением числа тучных клеток.

Выявленные при трансмиссионной электронной микроскопии изменения в клетках слизистой оболочки ДПК свидетельствуют о нарушении процессов всасывания, фильтрации и усвоения питательных веществ. Реакция бокаловидных клеток на повреждение в виде компенсаторного повышения секреторной функции была выражена в слизистой оболочке ДПК так же, как и в органах

дыхательной системы при бронхиальной астме [11, 12, 13]. Во многих клетках слизистой оболочки ДПК 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 соответствует характерным признакам ремоделирования стенок бронхов при БА. Выявленные ультраструктурные изменения клеток слизистой оболочки ДПК свидетельствуют о нарушении метаболических функций при БА, ведущем к полной дисгармонии клеток, к нарушениям белкового и липидного обменов. Интересными и нуждающимися в более тщательном анализе является активация компенсаторных ресурсов в клетках слизистой оболочки ДПК второй группы при повреждении процессов всасывания и фильтрации. Выявленные морфологические изменения свидетельствуют об общих патологических процессах в слизистых оболочках при бронхиальной астме. Оценка и анализ выявленных ультраструктурных нарушений в клетках и субклеточных структурах слизистой оболочки ДПК при бронхиальной астме подтверждает гипотезу о вовлечении в атопический процесс различных систем организма и, в частности, органов пищеварения, что значительно утяжеляет течение заболевания.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES):

1. Parameswaran Nair, Sergei I Ochkur, Cheryl Protheroe, Elizabeth Simms. *The identification of eosinophilic gastroenteritis in prednisone-dependent eosinophilic bronchitis and asthma*. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011; 7(1): 4.
2. 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; 25(4):253-9.
3. Shirai T, Komiyama A, Hayakawa H. *Eosinophil-associated gastrointestinal disorders with asthma: immunohistochemical analyses*. *Intern Med* 2009; 48(15):1315-21.
4. Golovanova V.E., Mikhaleva L.M., Barkhina T.G., Schegoleva N.N., Gracheva N.A., Ivanova E.V. *Patomorfologicheskaja harakteristika gastroduodenal'noj zony pri persistirujushhej bronhial'noj astme legkoj stepeni tjazhesti*. *Fundamental'nye issledovanija (Rus)* 2012; 4(1): 42-46.
5. Mikhaleva L.M., Barkhina T.G., Schegoleva N.N., Gracheva N.A. *Lekarstvennyj patomorfoz hronicheskogo jezofagita, gastrita i duodenita u bol'nyh bronhial'noj astmoj*. In book: *Tezisy dokladov XI Moskovskoj Assamblei «Zdorov'e stolicy»*. Moskva, 13-14 dekabrja 2012 goda (Rus) 2012: 171-172.
6. Nemtcov V.I., Aleksandrova R. A., Magidov M. Ja. *Osobennosti bronhial'noj astmy u bol'nyh s patologiej gastroduodenal'noj zony*. *Allergologija (Rus)* 2009; 4:18-21.
7. Nepomnjashchih D.L., Lapij G.A., Ajdagulova S.V. i soavt. *Biopsija v gastrojenterologii: morfogenez obshheatologicheskix processov*. Pod red. Nepomnjashchih G.I. (Rus). Moscow: «Izdatel'stvo RAMN». 2010: 433p.
8. Golovanova V.E., Barkhina T.G., Mikhaleva L.M., Chernikov V.P., Judina E.B. *Kletochnye i vnutrikletochnye reakcii dvenadcatiperstnoj kishki pri persistirujushhej bronhial'noj astme legkoj i srednej stepeni tjazhesti*. In book: *Aktual'nye voprosy morfogeneza v norme i patologii: Sbornik nauchnyh trudov konferencii (Rus)*. Moskva, 2012: 33-38.
9. Mikhaleva L.M., Barkhina T.G., Golovanova V.E., Schegoleva N.N., Gracheva N.A. *Jezofagit pri bronhial'noj astme*. *Obzor literatury. Klinicheskaja medicina (Rus)* 2012; 6:7-11.
10. Mikhaleva L.M., Barkhina T.G., Schegoleva N.N., Gracheva N.A. *Sravnitel'naja morfologija slizistoj obolochki zheludka u pacientov s bronhial'noj astmoj pri ingaljacionnoj gljukokortikosteroidnoj terapii*. *Arhiv patologii (Rus)* 2013; 75(2):9-15.
11. Guschin M. Ju., Golovanova V.E., Barkhina T.G., Pol'ner S.A. *Sravnitel'naja harakteristika klinicheskix i morfologicheskix aspektov u pacientov razlichnogo vozrasta pri bronhial'noj astme*. *Fundamental'nye issledovanija (Rus)* 2011; 6:49-53.
12. Guschin M. Ju., Golovanova V.E., Barkhina T.G., Pol'ner S.A. *Jepidemiologicheskie i kliniko-morfologicheskie aspekty allergicheskogo rinita i bronhial'noj astmy u pacientov razlichnogo vozrasta*. *Rossijskij allergologicheskij zhurnal (Rus)* 2011; 4(1): 97-100.
13. Guschin M. Yu., Barkhina T.G., Golovanova V.E., Polner S.A. *Bronchial asthma and allergic rhinitis: clinical, immunological and morphological features*. *European Respiratory Journal* 2011; (38) Suppl. 55: 981.

Авторская справка:

1. Бархина Татьяна Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель группы клеточных взаимодействий ФГБУ НИИ морфологии человека РАМН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3., тел. 89057035035, E-mail: tbarkhina@mail.ru
2. Михалева Людмила Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории клинической морфологии ФГБУ НИИ морфологии человека РАМН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3., тел. 89036214457, E-mail: mikhalevalm@yandex.ru

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

медицинских наук, руководитель лаборатории экспериментальной патологии клетки ФГБУ НИИ морфологии человека РАМН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3., тел. 84991200555, E-mail: tbarkhina@mail.ru

4. Черников Валерий Петрович, кандидат