

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1997

УДК 616.24-036.12-091

Г.И.Непомнящих, Л.М.Непомнящих

МОРФОГЕНЕЗ И ПРИЖИЗНЕННАЯ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ХРОНИЧЕСКИХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЛЕГКИХ

НИИ региональной патологии и патоморфологии Сибирского отделения РАМН, Новосибирск

Разработке проблемы хронических патологических процессов в легких посвящено большое число исследований [2,5,9,10,16,17,22,23], в которых анализируются различные аспекты этиопатогенеза и морфогенеза этой группы заболеваний. Тем не менее эта проблема постоянно находится в центре внимания специалистов-пульмонологов, поскольку изменения в окружающей среде, интродукция большого числа чужеродных соединений в организм человека, прежде всего через легкие, способствуют возникновению новых форм хронической патологии, диагностика и терапевтическая коррекция которых в настоящее время затруднены. В этом плане поиск новых методологических и методических подходов к изучению структурно-функциональных основ хронических процессов в легких, так же как и новое концептуальное осмысление полученных фактов, приобретают особую актуальность.

Современный этап развития исследований по проблеме хронических патологических процессов в легких немыслим без комплексного применения клинко-эндоскопических, функциональных, биохимических и морфологических методов. Но не только это позволило в последние годы получить принципиально новые результаты в этой области. Существенную роль сыграло начатое нами в начале 60-х годов изучение бронхоскопических биопсий [4], которое проводилось не только в целях диагностики опухолевого или туберкулезного процесса, но и для оценки стадии структурной перестройки бронхиальной стенки, определения прогноза хронических заболеваний легких, а также коррекции терапии [5,6,9—11]. В дальнейшем в комплексное бронхологическое исследование был включен бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), что давало возможность по количественным и качественным сдвигам в составе клеточных популяций оценить состояние респираторного компартмента легких [3].

Следует особо отметить, что одним из основополагающих моментов в развитии пульмонологических исследований стало внедрение новой методологии, а именно использование бронхоскопических биопсий и бронхоальвеолярного лаважа для оценки структурно-

функционального состояния и взаимосвязи воздухоносного и респираторного компартментов легких.

Используя этот методологический подход, мы провели клинко-бронхологический и патоморфологический (операционный и биопсийный материал) анализ 1072 наблюдений с различными хроническими воспалительными заболеваниями легких и туберкулезом; всего изучено 923 бронхиальных биоптата и 364 образца БАЛ.

Методическую основу исследования составил комплексный морфологический анализ, включающий световую и электронную микроскопию, а также радиоавтографию *in vitro* с предшественниками синтеза ДНК и РНК. Радиоавтография имела ключевое значение, так как позволила придать исследованию структурно-функциональный характер.

Обобщая результаты 35-летних исследований, мы сочли возможным сформулировать несколько общих положений, касающихся закономерностей структурных реакций легкого в условиях хронических патологических процессов. Во-первых, это стереотипность тканевых и клеточных изменений при патологических процессах различного генеза; во-вторых, особая резистентность крупных бронхов к действию патологических факторов; в-третьих, взаимосвязь воздухоносного и респираторного отделов легких в компенсации нарушенных в патологии функций. Излагая наши данные, попытаемся проиллюстрировать эти положения на конкретном материале.

Стереотипность структурно-функциональных реакций легкого состоит в том, что многие патологические процессы в своем морфологическом выражении (а также и клиническом течении, в связи с чем бывают так трудны вопросы дифференциальной диагностики) имеют не только специфические, но и стереотипные проявления. Так, при различных патологических процессах основу поражения респираторного отдела легких составляет альтерация аэрогематического барьера (повреждение альвеолоцитов, эндотелиоцитов капилляров, их базальных мембран) и развитие склероза интерстиция. Для воздухоносного компартмента ха-

рактерно повреждение бронхиального эпителия, нарушение процессов его регенерации и дифференцировки, а также синхронно развивающийся склероз слизистой оболочки бронхов.

Бронхиальный эпителий человека и животных отвечает стереотипными реакциями на различные воздействия, включая механические повреждения, нарушения питания (дефицит витамина А), радиационные повреждения, раздражающие газы, инфекционные агенты и канцерогены. Эта реакция содержит серию превращений: гиперплазию бокаловидных клеток, стратификацию, ороговевающую и неороговевающую эпидермоидную метаплазию, которые несмотря на морфологические различия представляют собой широкий спектр фенотипической экспрессии слизистых клеток [22].

Резистентность крупных бронхов как особое свойство выделено нами в результате комплексного бронхоскопического и морфологического исследования бронхобиопсий при различных хронических патологических процессах бронхолегочной системы и сопоставлении этих данных с результатами исследования операционного материала. Установлено, что в крупных бронхах при хронических воспалительных заболеваниях преобладают склеротические изменения слизистой оболочки без выраженной воспалительно-клеточной инфильтрации и при отсутствии некротически-язвенных изменений.

При изучении состояния бронхов от места операционного сечения до периферии прослеживается определенная закономерность: степень поражения крупных бронхов наименьшая, по направлению к дистальным отделам она усиливается и достигает наибольшей выраженности в мелких бронхах и бронхиолах. Независимо от генеза воспалительного процесса в легких, в крупных бронхах развивается комплекс стереотипных неспецифических изменений, включающий полиморфно-клеточную, как правило, нерезко выраженную инфильтрацию стенки с последующим склерозированием, редукцию микроциркуляторного русла и синхронно происходящую перестройку бронхиального эпителия.

При различных хронических воспалительных процессах в легких поражение крупных бронхов начинается с катаральной формы воспаления, затем переходит в катарально-склерозирующую и завершается склерозирующим типом бронхита. Прогноз патологического процесса в легких в значительной степени связан с состоянием покровного бронхиального эпителия. Учитывая прогностическую ценность определения состояния покровного бронхиального эпителия, мы выделили четыре последовательные стадии его структурных изменений, каждая из которых связана с определенной степенью нарушения функции [5]. Первая стадия характеризуется незначительным изменением строения эпителия, во второй стадии обнаруживается выраженная альтерация эпителиоцитов. В последующие стадии возникают нарушения процессов пролиферации и дифференцировки. Наиболее существенными моментами в структурной реорганизации бронхиального эпителия являются деструкция реснитчатого ап-

парата и появление от базального слоя "отростчатых" клеток, имеющих полигональную форму и электронноплотную цитоплазму. Появление "отростчатых" клеток — признак начинающейся плоскоклеточной метаплазии.

В эпителии крупных бронхов при длительных повреждающих воздействиях выделены два наиболее типичных варианта структурно-функциональной перестройки: первый характеризуется снижением метаболической и пролиферативной активности эпителиоцитов и последующей атрофией эпителия, второй — снижением метаболической функции эпителиоцитов, но сохранением высокого уровня пролиферации базальных клеток, что в дальнейшем сопровождается метаплазией покровного бронхиального эпителия в многослойный плоский (рис.1, а, б). Выявленная закономерность в гетерогенности эпителиоцитов по синтезу ДНК позволяет прогнозировать перестройку бронхиального эпителия и определять в значительном числе случаев тактику терапии.

В целом изучение биоптатов крупных бронхов при хронических воспалительных процессах легких методом радиоавтографии *in vitro* [10] показало высокую метаболическую активность клеток бронхиального эпителия при хроническом катаральном бронхите: 78—80% эпителиоцитов имели радиоавтографы с ^3H -уридином (рис.1, в). Наибольшая метаболическая активность выявлена в реснитчатых и бокаловидных клетках, более 90% этих клеток содержали зерна серебра. При переходе хронического катарального бронхита в склерозирующий индекс меченных ^3H -уридином эпителиоцитов снижался на 6,5%, уменьшалась также плотность метки.

В собственной пластинке слизистой оболочки крупных бронхов наибольшей метаболической активностью обладали эндотелиоциты кровеносных капилляров (рис.1, г). При хроническом катаральном бронхите более 80% этих клеток включали ^3H -уридин. В процессе хронизации (при склерозирующем бронхите) синтез РНК в эндотелиоцитах снижался, особенно существенной была разница в период обострения процесса — на 14%. В метаболических реакциях эпителия и клеток соединительной ткани слизистой оболочки бронхов выявлена паренхиматозно-стромальная корреляция; усиление метаболической активности в эндотелиоцитах и перикапиллярных клетках сопровождалось усилением метаболизма эпителиоцитов.

Полученные результаты расширяют наши представления о морфогенезе хронических патологических изменений бронхов человека. По-видимому, в условиях длительного "раздражения" бронхиальной стенки многие клеточные элементы переходят на режим повышенного метаболизма, что одновременно с пролиферативными реакциями компенсирует дефицит клеток в результате их гибели.

Однако через определенное время наступает истощение структурно-метаболических резервов клеток, снижается их белоксинтезирующая функция и происходит изменение направленности структурно-функциональной дифференцировки — многорядный цилинд-

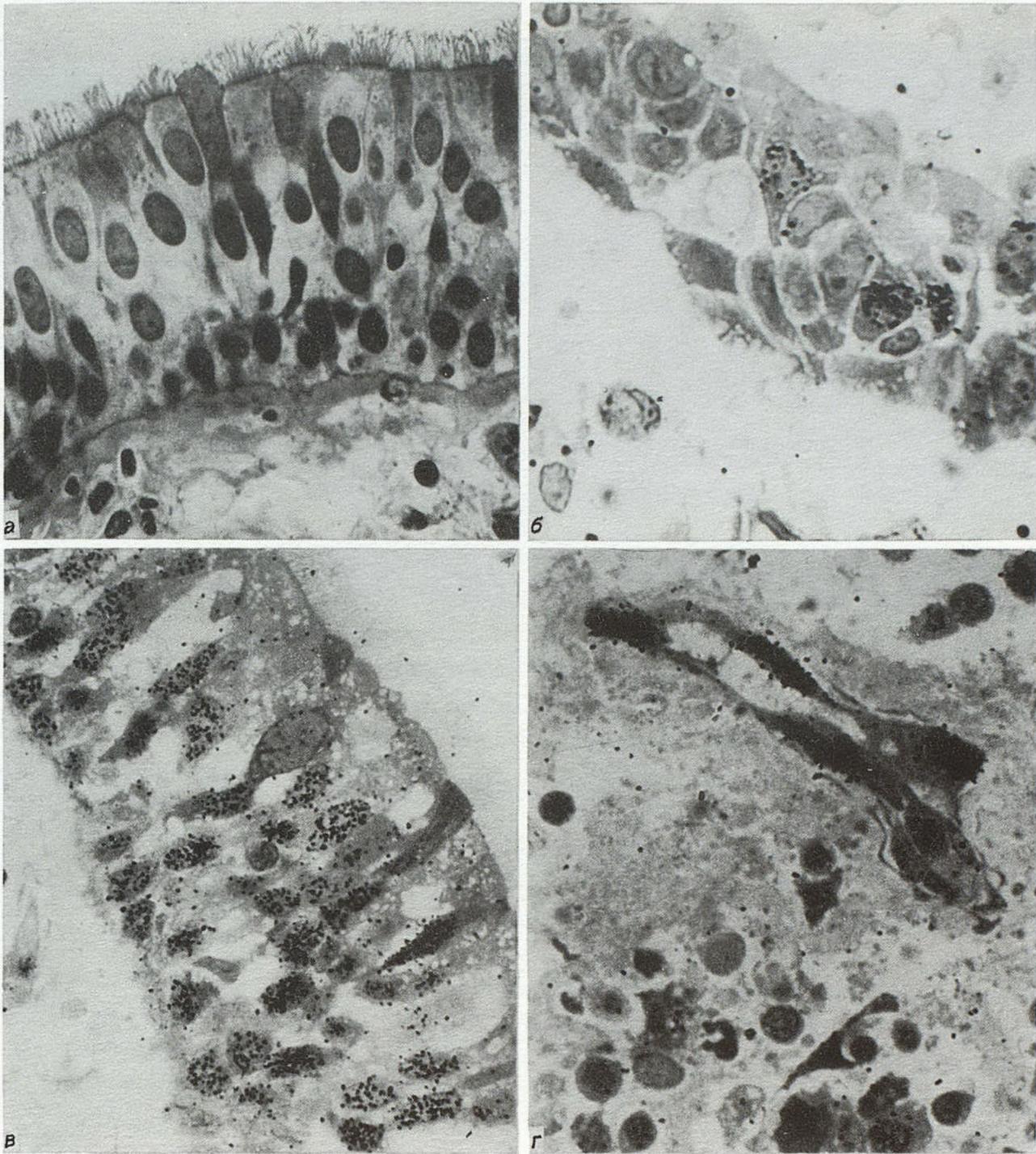


Рис. 1. Светомикроскопическая и радиоавтографическая характеристика бронхиальных биопсий при хронических воспалительных процессах в легких.

а — бронхиальный эпителий нормального строения; б — метаплазия бронхиального эпителия в многослойный плоский. Радиоавтографы с ^3H -тимидином в нескольких эпителиоцитах. Инкубация с ^3H -тимидином; в — высокий уровень синтеза РНК в бронхиальных эпителиоцитах. Инкубация с ^3H -уридином; г — интенсивный синтез РНК в эндотелиоцитах кровеносных сосудов. Инкубация с ^3H -уридином. Полутонкие срезы, окраска азуром II. а — ув. 630; б, в, г, — ув. 1000.

рический реснитчатый эпителий заменяется многослойным плоским или однорядным уплощенным.

Возникновение гетеротопной дифференцировки предположительно происходит двумя путями: (1) базальные клетки трансформируются и дают начало новой популяции клеток, или (2) под действием индуцирующего стимула в систему входят новые клетки-предше-

ственники, которые колонизируют систему и дают начало новой дифференцировке. Для такой трактовки есть все основания, потому что любой участок ткани внутренней среды у млекопитающих представляет собой в высокой степени открытую систему.

В этом аспекте особый смысл приобретает высокая метаболическая и пролиферативная активность эндо-

телиоцитов и клеток перикапиллярной зоны. Динамика функциональной активности васкулярных клеток синхронизирована с метаболизмом и морфогенезом эпителиальных клеток. Это подтверждает идею о том, что во взаимоотношениях паренхимы и стромы на территории тканевого микрорайона капилляру принадлежит ключевая роль.

Обратимость плоскоклеточной метаплазии бронхиального эпителия у человека постоянно привлекает внимание исследователей. Интересные и важные данные получены нами при изучении бронхиальных биоптатов 76 пациентов, в лечении которых была применена эндобронхиальная лазерная терапия [12]. Количество сеансов варьировало от 2 до 6 при экспозиции 3—5 мин. Бронхиобиопсию и БАЛ производили перед каждым сеансом лазеротерапии. 32 человека с аналогичными патологическими процессами в легких получали традиционную терапию без лазерного воздействия. Бронхиобиопсию и БАЛ у этих больных исследовали до и после окончания курса лечения.

Основной характеристикой полученного под действием лазера феномена является гиперпластическая трансформация бронхиального эпителия, последующее изменение его дифференцировки и восстановление естественного морфологического фенотипа. Другими словами, происходила реверсия многослойного плоского или атрофированного бронхиального эпителия в многорядный цилиндрический, что представляет собой уникальный феномен. Позитивные изменения в респираторном отделе легких, оцениваемые по данным БАЛ [13], состояли в снижении цитоза, уменьшении числа нейтрофилов и главное в активации системы мононуклеарных фагоцитов.

Радиоавтографическое исследование в динамике лазерной терапии выявило значительное увеличение метаболической и пролиферативной активности клеточных элементов легкого: индекс метки с ^3H -уридином в эпителии бронхов возрастал с 49,1 до 90,8%, в альвеолярных макрофагах — с 53,9 до 75%; синтез ДНК в бронхиальном эпителии в некоторых случаях увеличивался на 5—8-е сутки в два раза.

Общая картина структурных изменений в легких при лазерной терапии, несмотря на стереотипность, варьировала по степени выраженности и во времени, что зависело от характера патологического процесса в легких, возраста пациента и количества сеансов лазеротерапии.

Сопоставление структурно-метаболических изменений в воздухоносных и респираторных отделах легких в условиях эндобронхиальной лазерной терапии показало, что в основе клинического эффекта лазерной терапии хронических воспалительных заболеваний легких лежит стимуляция регенераторных процессов.

Переходя к результатам изучения легкого с помощью бронхоальвеолярных смывов, считаем необходимым отметить, что в настоящее время имеется большое число работ по цитологическому изучению БАЛ при различных заболеваниях легких [2,15,16,20,23—25], актуальны исследования, касающиеся радиационных поражений легких [1,14,18,19], особенно в аспек-

те включения БАЛ в лечебную программу радионуклидных пневмопатий [17]. С 1982 г. мы стали широко применять БАЛ в составе комплексного бронхологического исследования больных с хроническими заболеваниями легких [7,8,13].

Изучение клеток бронхоальвеолярных смывов при хронических воспалительных заболеваниях легких и туберкулезе показало, что наиболее значительные изменения цитограммы зависят не от формы воспаления, а от фазы процесса и возникают, как правило, при его обострении [8], особенно в связи с нагноением и деструкцией легочной паренхимы. Самыми важными из этих изменений можно считать высокий цитоз, лейкоцитоз и уменьшение числа макрофагов (рис.2, а).

В зависимости от фазы хронического воспаления легких изменяется не только количественное соотношение различных клеточных популяций в лаважной жидкости, но и качественный состав каждой популяции. Наиболее отчетливо это удалось проследить на макрофаге, являющемся существенным показателем состояния компенсаторных реакций легкого в условиях патологии. Комплексный структурный анализ выявил значительную гетерогенность макрофагов. По ультраструктурной характеристике и уровню синтеза РНК мы классифицировали макрофаги бронхоальвеолярных смывов на пять форм (рис.2, б), являющихся последовательными стадиями развития популяции мононуклеарных фагоцитов, — от клеток-предшественников к клеткам с полностью развернутым лизосомальным циклом и последующим фагоцитозом [8].

В динамике хронических воспалительных заболеваний легких происходят активация популяции макрофагов, появление молодых форм, усиление в них белкового синтеза, стимуляция фагоцитарной функции с последующей дегенерацией части клеток. Наличие в легком большого количества молодых и активно функционирующих макрофагов свидетельствует о выраженности компенсаторно-приспособительных реакций легкого. В этом аспекте большое значение имеет обнаруженная при инкубации клеток лаважной жидкости с ^3H -тимидином возможность пополнения популяции макрофагов в легком за счет пролиферации *in situ* [7].

Радиоавтографическое исследование клеток лаважной жидкости с ^3H -тимидином показало, что в респираторных отделах легкого небольшое число макрофагов (среди них макрофаги, имеющие строение, близкое к моноцитам крови, и реже — клетки, относящиеся к зрелым формам альвеолярных макрофагов) накапливают метку [7]. Это накопление представляет собой, вероятно, результат синтеза ДНК, а не ее репарацию. В пользу такой интерпретации свидетельствуют высокая интенсивность метки при ее низком индексе (рис.2, в), обнаруживаемые иногда фигуры митозов макрофагов [15], а также результаты блокирующих экспериментов с цитозинарабинозидом или гидроксимочевинной [21]. Такой широкий спектр фенотипической экспрессии макрофагальных клеток соответствует концепции о серии связанных между собой компартментов, участвующих в образовании, транспорте и адаптивном ответе макрофагов.

БИОПАРОКС®

ФУЗАФУНЖИН

ИНФЕКЦИИ
ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

*Уникальный ингаляционный препарат,
обладающий антимикробными
и противовоспалительными свойствами*



4 пероральные ингаляции и
4 ингаляции через каждый
носовой ход
4 раза в день

7 основных
показаний
к применению

синусит

ринит

фарингит

тонзиллит

ларингит

трахеит

бронхит

**МЕСТНОЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ
НА ВСЕХ УРОВНЯХ ДЫХАТЕЛЬНОГО ТРАКТА**



103109, Москва,
Газетный пер., 17/9
Тел.: (095) 234 3866
Факс: (095) 234 3299

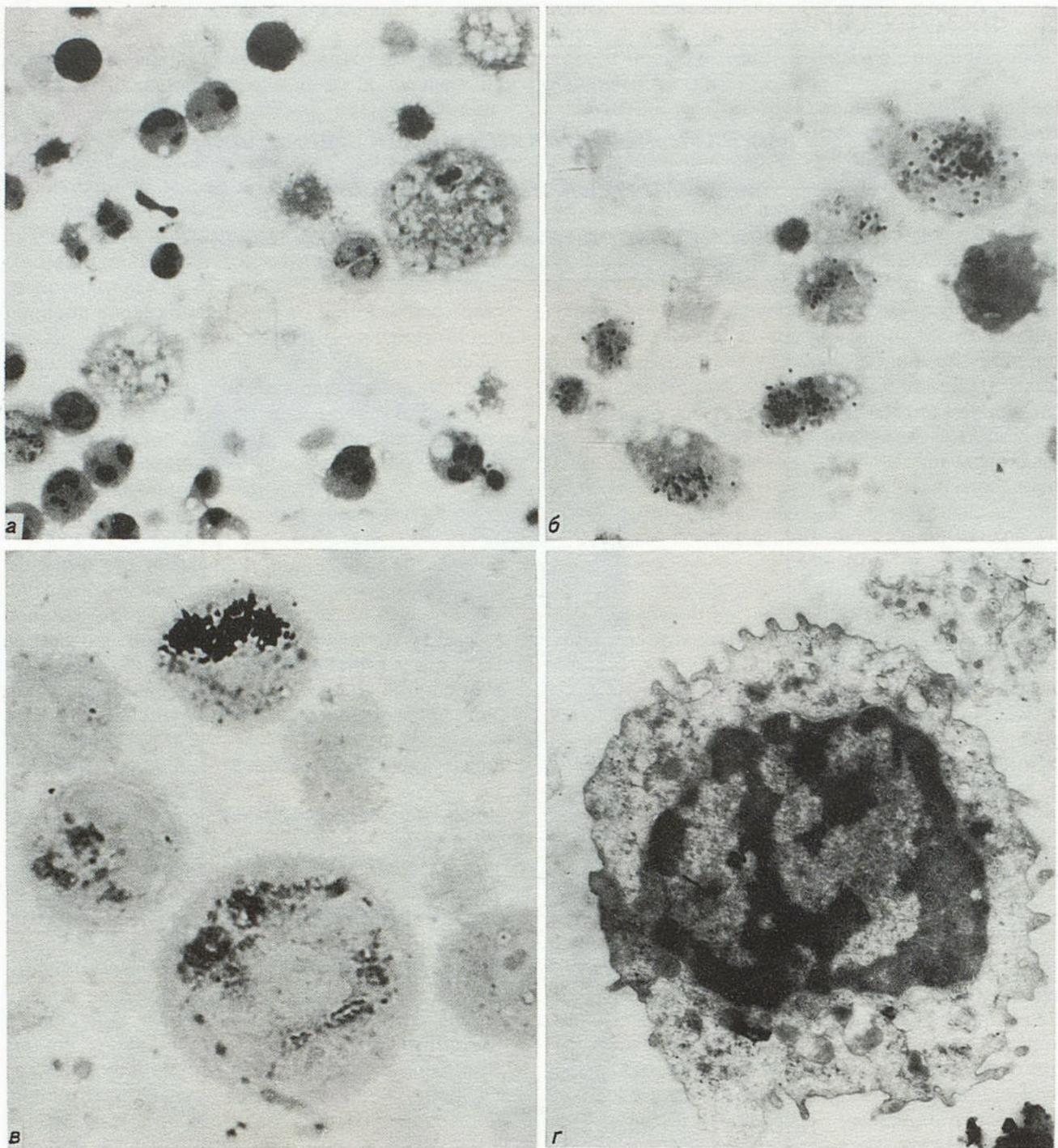


Рис.2. Цитологический и радиоавтографический анализ клеток БАЛ при хронических воспалительных процессах в легких.

а — гетерогенные макрофаги и большое число лейкоцитов в бронхоальвеолярном смыве; б — альвеолярные макрофаги с различным уровнем синтеза РНК. Инкубация с ^3H -уридином; в — синтез ДНК в альвеолярном макрофаге. Инкубация с ^3H -тимидином; г — радиоавтографы с ^3H -уридином в лимфоците бронхоальвеолярного смыва. а, б, в — полутонкие срезы, окраска азуром II. Ув. 1000; г — электронограмма. Ув. 10 000.

Данные литературы и полученные нами факты дают возможность предположить существование по крайней мере двух путей количественного пополнения популяции легочных макрофагов у человека. Главный из них — миграция клеток-предшественников из костного мозга, другой — репликация *in situ*. Вклад каждого из них в общее увеличение популяции клеток, по-видимому,

определяется конкретной ситуацией. Пролиферация *in situ* включается, вероятно, при длительных “раздражениях”, при определенной степени декомпенсации первого, аварийного, пути и является важным звеном в течении хронических патологических процессов в легких.

Одна из основных задач нашего исследования состояла в сопоставлении реакций воздухоносного и

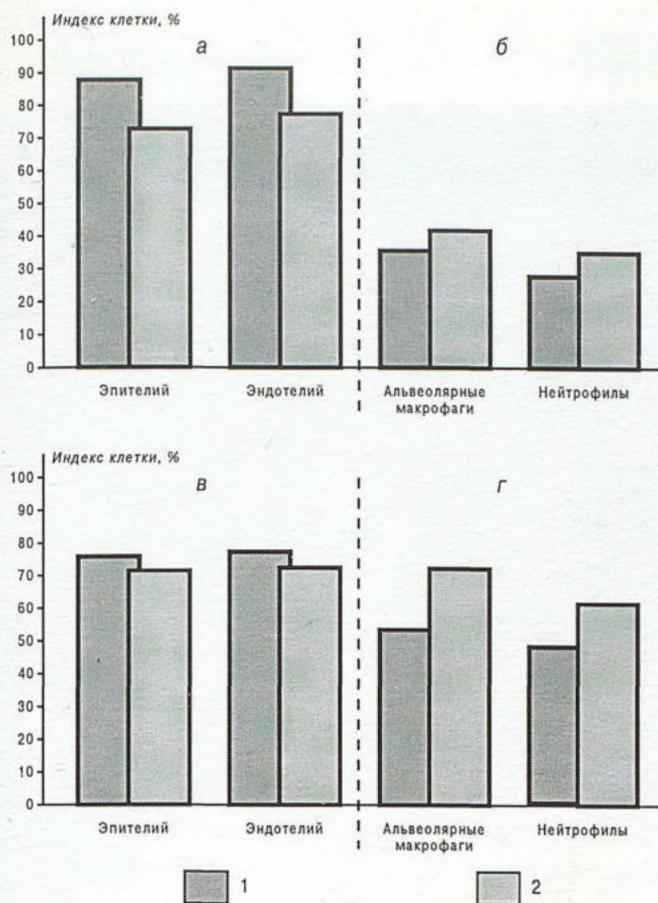


Рис.3. Результаты радиоавтографического анализа синтеза РНК в биоптатах крупных бронхов и лаважных клетках у больных с хроническими воспалительными процессами в легких.

а, б — фаза обострения процесса; в, г — фаза ремиссии; а, в — исследование бронхиальных биоптатов; б, г — исследование бронхоальвеолярных смывов; 1 — хронический катаральный бронхит, 2 — склерозирующий бронхит.

респираторного отделов легких при хронических воспалительных процессах в легких [10]. В этом аспекте функциональная оценка состояния клеток с помощью метода радиоавтографии дала возможность получить новые данные. Так, установлено, что метаболическая активность клеток бронхоальвеолярных смывов коррелирует с метаболической активностью клеток покровного эпителия бронхов (рис.3). При переходе хронического катарального бронхита в склерозирующий отмечено снижение метаболических процессов в эпителиоцитах и эндотелиоцитах бронхиальной стенки (уменьшается индекс меченых клеток и плотность метки), но возрастает метаболическая активность альвеолярных макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов, полученных при БАЛ (рис.2, в).

В целом анализ данных по морфологическому исследованию воздухоносного (по бронхоскопии с биопсией) и респираторного отделов легких (по бронхоальвеолярным смывам) свидетельствует о взаимосвязи этих двух отделов в компенсации нарушенных в результате патологического процесса функций органа. Наши данные позволяют сделать вывод о том, что на начальных этапах большую нагрузку несут воздухоносные отделы, что отражается в многообразии про-

исходящих в них перестроек. По мере развития склерозирующего бронхита и метаплазии покровного бронхиального эпителия в многослойный плоский или его атрофии в значительной степени активируются клеточные популяции в респираторной ткани, что находит отражение в высоком цитозе лаважной жидкости и качественных изменениях клеточного состава, в том числе индукции метаболических и пролиферативных реакций в клетках макрофагальной системы.

Полученные в исследованиях данные по динамике структурных изменений воздухоносных и респираторных отделов легких могут быть использованы в клинической пульмонологии как критерий стадий компенсаторно-приспособительной перестройки легких, для определения прогноза болезни и при выборе тактики лечения. К наиболее важным критериям относятся стадия структурно-метаболической перестройки бронхиального эпителия, а также качественная и количественная характеристика популяций клеток респираторных отделов легких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грובהва О.М., Чучалин А.Г., Черников В.П. и др. Цитологическая, ультраструктурная характеристика и рентгеноспектральный микроанализ бронхоальвеолярных смывов ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции в отдаленные сроки (первое сообщение) // Пульмонология. — 1993. — № 4. — С.51—55.
2. Ерохин В.В., Лепеха Л.Н., Гедымин Л.Е., Николаева Г.М. Особенности макрофагальной реакции при некоторых гранулематозных заболеваниях легких // Там же. — 1992. — № 4. — С.39—46.
3. Комплексная диагностика бронхиальной астмы и предастматических состояний (на основе бронхологического, аллергологического, цитологического и прижизненного патологоанатомического исследования): Метод. рекомендации / Непомнящих Г.И., Лобкова О.С., Егунова С.М. и др. — М., 1983.
4. Мухин Е. П., Слепцова А.И., Непомнящих Г.И. Сравнительная оценка двух методов бронхоскопии в диагностике туберкулезного эндобронхита // Вопросы организации, диагностики и лечения больных туберкулезом. — Челябинск, 1966. — С.56—58.
5. Непомнящих Г.И. Патологическая анатомия и ультраструктура бронхов. — Новосибирск: Наука, 1979.
6. Непомнящих Г.И., Ефремов В.Н., Непомнящих Л.М., Туманов В.П. Электронно-радиографическое исследование стенки крупных бронхов при хронических воспалительных процессах в легких // Бюл. эксп. биол. — 1985. — № 12. — С.744—748.
7. Непомнящих Г.И., Ефремов В.Н., Непомнящих Л.М., Туманов В.П. Радиоавтографическое исследование синтеза ДНК в макрофагах бронхоальвеолярного лаважа при хронических воспалительных процессах в легких // Там же. — 1986. — № 8. — С.236—240.
8. Непомнящих Г.И., Ефремов В.Н., Туманов В.П., Непомнящих Л.М. Электронно-микроскопическое и радиоавтографическое исследование клеток бронхоальвеолярного лаважа при неспецифическом воспалении легких // Там же. — № 1. — С.105—109.
9. Непомнящих Г.И., Непомнящих Л.М. Прижизненная патологоанатомическая диагностика и прогноз хронических воспалительных процессов в легких // Арх. пат. — 1990. — № 2. — С.30—35.
10. Непомнящих Г.И., Непомнящих Л.М. Хронические воспалительные процессы в легких: Прижизненная патологоанатомическая диагностика и прогноз // Там же. — № 6. — С.16—19.
11. Непомнящих Г.И., Филюшина Е.Е., Егунова С.М. Ультраструктурная характеристика бронхиального эпителия при туберкулезе легких (по материалам биопсий) // Там же. — 1975. — № 11. — С.44—49.