

лярного пространства после проведенной антибактериальной терапии в сочетании с лечебным БАЛ приводит к частичному восстановлению этой функции фагоцитов, что проявляется обнаружением таких клеток при исследовании БАС.

При исследовании БАЛ больных МВ после проведенной антибактериальной терапии тиенамом отмечали появление апоптозно измененных ПЯЛ. Было показано, что апоптоз является одним из механизмов контроля над процессом воспаления и повреждения ткани, связанным с удалением нейтрофилов из очага воспаления. В литературе имеются данные о том, что липополисахаридный компонент эндотоксина, а также некоторые медиаторы воспаления ингибируют концентрационно-зависимое развитие апоптоза ПЯЛ [6]. В связи с этим повышение числа апоптозно измененных ПЯЛ в БАЛ при лечении тиенамом, по-видимому, следует связывать с антибактериальным действием препарата. По нашему мнению, появление в БАС апоптозных тел и апоптозно измененных ПЯЛ можно расценивать как положительный эффект лечения. В то же время появление таких клеток, возможно, связано с токсическим действием антибактериального препарата.

Таким образом, проведенное цитологическое исследование позволило сделать вывод о том, что при адекватном подборе антибактериального препарата удается снизить активность воспалительного процесса в легких у взрослых больных МВ. Появление в БАС активированных форм альвеолярных макрофагов и

апоптозно измененных нейтрофилов является свидетельством активизации местной клеточной защитной системы и, возможно, может служить критерием эффективности проводимой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерохин В.В., Эккерт Х. Электронно-микроскопическое изучение патогенеза экспериментальной масляной пневмонии // Бюл. exper. биол. — 1980. — № 3. — С.362—366.
2. Климанская Е.В., Овчинникова А.А., Федоров А.А. и др. Бронхиальный лаваж при легочной форме муковисцидоза у детей и подростков // Пороки развития и генетически обусловленные формы хронических неспецифических заболеваний легких. — Л., 1976. — С.122—123.
3. Филиппенко Л.Н. Участие легочных макрофагов в регуляции количества сурфактанта на поверхности альвеол // Бюл. exper. биол. — 1977. — № 12. — С.646—650.
4. European guidelines for the clinical evaluation of anti-infective drug products / Eds T.R. Beam, D.N. Gilbert, C.M. Kunin // Clinical Infectious Diseases. — 1993. — Suppl. — P.21—98.
5. Hoiby N., Doring G., Schiøtz P.O. Pathogenic mechanisms of chronic P.aeruginosa infection in CF patients // Antibiot. Chemother. — 1987. — Vol.39. — P.69—76.
6. Lee A., Whyte M.K., Haslett C. Inhibition of apoptosis and prolongation of neutrophil functional longevity by inflammatory process // J. Leukoc. Biol. — 1993. — Vol.54, № 4. — P.283—288.
7. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. Ed. H.Klech, W.Pohl // Eur.Respir. J. — 1989. — Vol.2. — P.561—585.
8. Volkov I.K., Kapranov N.I. BAL in children with cystic fibrosis // Internatoinal Children Fibrosis Congress, 11-th. — Dublin, 1992. — P.447.

Поступила 22.06.96.

© АНАЕВ Э.Х., 1996

УДК 616.248—085—07:616.155.35—091

Э.Х.Анаев

ЭОЗИНОФИЛЫ И ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПРИ ЛЕЧЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва

EOSINOPHILS AND THEIR MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES IN BRONCHIAL ASTHMA

Е.Н.Анаев

Summary

Blood and sputum eosinophil counts, levels of eosinophil cationic protein (ECP), serum IgE, forced expiratory volume in one second (FEV₁), morphometrical parameters of eosinophils were assessed in 20 consecutive patients with acute exacerbation of moderate atopic bronchial asthma characterized by initial blood and sputum eosinophilia. Before treatment blood eosinophil count ranged from 4.1 to 20.2×10⁸ cell/l; sputum eosinophil count — from 18 to 61% (60% of all sputum eosinophils were degranulated), the mean value of ECP concentration was 45.2±11.6 mkg/l; IgE level was 593.5±68.2 mU/ml and FEV₁ — 65.4±4.5% respectively. Morphometrical assessment revealed increased main parameters of eosinophils compared with that ones of healthy individuals. During exarcebation of asthma there was noted a strong correlation between eosinophil counts in blood and sputum ($r=0.89$; $p<0.05$), and also between levels of ECP and IgE ($r=0.70$; $p<0.05$). After treatment the improvement in general condition was

accompanied by trustworthy fall in blood eosinophils count (more than 2,3 fold), in sputum eosinophil count (more than 2,2 fold); ECP level — by 36%; IgE level — by 28% and increase in of FEV₁ — by 28%, and also decrease in morphometrical dimensions of eosinophils was revealed. There were reliable correlations between fall in ECP concentration and FEV₁ increment, between aforementioned changes in blood eosinophil count and changes of FEV₁ and ECP. These findings demonstrate the significance of blood and sputum eosinophilia in the cause of bronchial asthma and association between inflammatory changes in airways and clinical course of bronchial asthma during treatment.

Резюме

Содержание эозинофилов в крови (ЭК) и мокроте (ЭМ), уровень эозинофильного катионного протеина (ЭКП) и общего иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови и значение объема форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ₁), а также морфометрические характеристики ЭК и ЭМ были изучены у 20 пациентов с обострением среднетяжелой атопической бронхиальной астмой (БА), характеризующейся эозинофилией крови и мокроты в начале 4-недельного периода лечения. При обострении БА абсолютное число ЭК составило $4,1-20,2 \times 10^8$ клеток/л, ЭМ — 18—61%, из которых около 60% клеток были дегранулированными (ДЭМ); концентрация ЭКП сыворотки в среднем составила $45,2 \pm 11,6$ мкг/л, уровень IgE — $593,5 \pm 68,2$ мЕд/мл, среднее значение ОФВ₁ — $65,4 \pm 4,3\%$ от должного. При морфометрическом исследовании ЭК исходно выявлены клетки с достоверно увеличенными основными показателями по сравнению со здоровыми людьми. В этот период заболевания выявлена сильная корреляционная связь между числом ЭК и ЭМ ($r=0,89$; $p<0,05$), а также между уровнем IgE и ЭКП сыворотки ($r=0,70$; $p<0,05$), что характеризует обострение процесса. В конце лечения наряду с улучшением клинического состояния больных выявлено достоверное снижение числа ЭК в 2,3 раза, ЭМ — 2,2 раза, ДЭМ — 3,1 раза; уровень ЭКП снизился на 36%, IgE — 32% при увеличении значения ОФВ₁ на 28%. Морфометрически после лечения обнаружены ЭК и ЭМ меньших размеров. Уменьшение ЭК в процессе лечения коррелировало со снижением ЭКП и приростом ОФВ₁, также выявлена связь между изменениями ЭКП сыворотки и ОФВ₁. Таким образом, показаны изменения свойств ЭК и ЭМ, а также связь степени воспаления в стенке бронхиального дерева с клиническим течением БА в процессе лечения.

В связи с широкой распространенностью и неуклонным ростом заболеваемости бронхиальной астмой (БА) проблема ее диагностики и лечения остается в центре внимания многих исследователей. В настоящее время получила широкое признание гипотеза, что в основе БА лежит хроническое воспаление стенки бронхиального дерева [3,9,15]. Эозинофилам принадлежит одна из ведущих ролей в развитии воспалительного процесса при БА [4,9,13].

Активированные эозинофилы высвобождают гранулярные белки и другие медиаторы воспаления, которые повреждают эпителиальные клетки бронхов, вызывают дегрануляцию базофилов и тучных клеток [7,8,10]. В литературе имеются противоречивые данные о связи степени воспаления бронхиального дерева с клиниче-

ским течением БА [5,11,12,18]. Нет данных о морфометрическом исследовании эозинофилов крови и бронхиального секрета при этом заболевании.

Цель настоящей работы — изучить морфологические и функциональные характеристики эозинофилов крови и мокроты у больных БА и их связь с клинической картиной заболевания в процессе лечения.

Обследовано 20 больных БА в возрасте 22—56 лет (9 мужчин и 11 женщин, средний возраст $36,6 \pm 2,2$ года), находящихся на стационарном лечении по поводу обострения заболевания. В соответствии с общепринятыми рекомендациями у всех пациентов на момент исследования установлена атопическая форма БА средней степени тяжести в стадии обострения [1,2]. Длительность заболевания в среднем $6,2 \pm 1,6$ года. Контроль-

Таблица 1

Морфометрические характеристики эозинофилов крови и мокроты у больных БА в процессе лечения ($M \pm m$)

Показатель	Кровь				Мокрота		
	Здоровые	Больные			Больные		
		Исходно	17-е сутки	29-е сутки	Исходно	17-е сутки	29-е сутки
ПК, мкм ²	$91,6 \pm 6,0$	$122,6 \pm 7,4^*$	$113,5 \pm 4,1^*$	$118,8 \pm 5,2$	$50,5 \pm 2,2$	$49,5 \pm 1,7$	$48,4 \pm 2,3$
ПЦ, мкм ²	$58,4 \pm 4,8$	$77,7 \pm 5,5^*$	$69,1 \pm 2,5^*$	$69,9 \pm 3,9$	$31,5 \pm 1,7$	$26,8 \pm 1,1$	$27,2 \pm 2,4$
ПЯ, мкм ²	$33,1 \pm 2,1$	$44,9 \pm 2,8^*$	$44,4 \pm 4,2^*$	$48,9 \pm 2,0^{*,**}$	$19,1 \pm 0,8$	$22,7 \pm 1,2$	$21,2 \pm 1,6^{**}$
ЯЦО	$0,74 \pm 0,09$	$0,65 \pm 0,05$	$0,67 \pm 0,03$	$0,70 \pm 0,06$	$0,66 \pm 0,03$	$0,80 \pm 0,09^{**}$	$0,76 \pm 0,05^{**}$

Примечание. * — $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** — $p<0,05$ по сравнению с исходным показателем.

ная группа включала 12 здоровых людей в возрасте 19—36 лет (5 мужчин и 7 женщин, средний возраст — $28,7 \pm 1,2$ года).

Проводилась традиционная лекарственная терапия, которая включала короткий курс глюкокортикостероидов (ГКС) парентерально, производные метилксантинов, стабилизаторы мембран тучных клеток (кромогликат натрия), бета-2-симпатомиметики, отхаркивающие препараты.

Эффективность лечения оценивали по изменению основных клинических симптомов заболевания и показателей лабораторно-инструментальных исследований, проводимых трижды: исходно (на 2-е сутки после поступления), на 17 и 29-е сутки после поступления. В контрольной группе исследование проводилось однократно.

Оценка динамики симптомов БА (приступы удушья, одышка, кашель с мокротой, хрипы) проводилась по разработанной нами 4-балльной шкале, при которой трем баллам соответствовало максимальное проявление признака, "0" — отсутствие.

Спирография проводилась с помощью спирографа фирмы "Sensor-Medics" (США) при поступлении в стационар и перед выпиской в утренние часы натощак.

Измерение общего IgE сыворотки проводили иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы "Labodia-Хема" (Швейцария-Россия). За норму принимали уровень не более 130 мЕд/мл.

Определение эозинофильного катионного протеина (ЭКП) сыворотки крови проводилось радиоиммунологическим методом с помощью набора фирмы "Pharmacia Diagnostics" (Швеция) на автоматическом гамма-счетчике фирмы "LKB" (Швеция). В норме концентрация ЭКП не более 12 мкг/л. Реагенты предоставлены научно-производственной фирмой "Хема" (Москва).

Цитологическое исследование включало подсчет клеток в мазках крови и мокроты, окрашенных после фиксации в смеси Никифорова по методике Романовского-Гимзы с использованием наборов фирмы "Sigma" (США). В мазках крови и мокроты при увеличении в 1000 раз проводили подсчет цитогаммы на 200 клеток с помощью микроскопа LABORLUX-S фирмы "Leica" (Германия).

Морфометрическое исследование эозинофилов крови и мокроты проводилось с использованием системы "SPD" с помощью микроскопа LABORLUX-S с телеприставкой и с выведением изображения клетки на экран компьютера. Оценивались такие морфометрические показатели, как площадь клетки (ПК), площадь цитоплазмы (ПЦ), площадь ядра (ПЯ) и ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО).

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием непарного t-критерия Стьюдента, непараметрического критерия Колмогорова-Смирнова. При проведении корреляционного анализа использовали также изменения показателей в процессе лечения (Δ).

Исходно у всех пациентов преобладали частые приступы удушья (потребность в ингаляциях симпатомиметиков составляла до 10 раз в сутки), кашель с трудноотделяемой мокротой, тахипноэ, одышка при

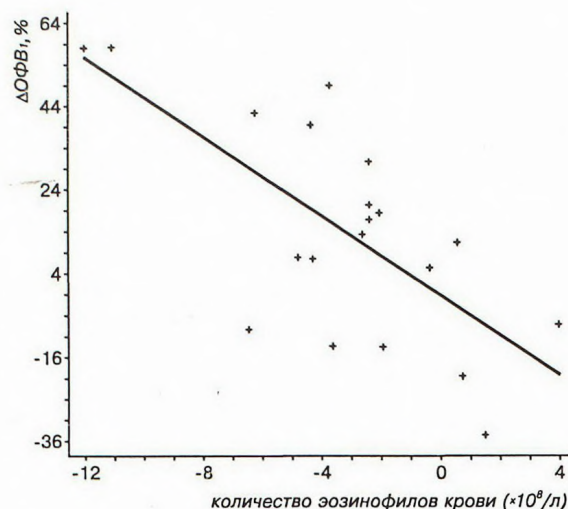


Рис. Корреляционная зависимость между изменением абсолютного числа эозинофилов крови и изменением ОФВ₁ в процессе лечения. $r = -0,69$; $p < 0,005$; $n = 20$.

физической нагрузке; в легких выслушивались рассеянные сухие хрипы на фоне ослабленного дыхания. Значения отдельных симптомов БА составили в среднем $2,76$ — $2,94$ балла, сумма баллов — $7,4 \pm 0,9$.

В анализе крови больных выявлена эозинофилия от $4,1$ до $20,2 \times 10^9$ клеток/л (в среднем $6,8 \pm 0,9 \times 10^8$ /л; в контроле $1,7 \pm 0,3 \times 10^8$ /л). Также обнаружена эозинофилия мокроты от 18 до 60% (в среднем $33,9 \pm 6,0\%$), из них дегранулированных форм $56,4 \pm 4,8\%$. Концентрация ЭКП сыворотки составила $45,2 \pm 11,6$ мкг/л (в контроле $4,7 \pm 2,4$). Уровень общего IgE сыворотки в среднем составил $592,5 \pm 68,2$ мЕд/мл (в контроле $93,5 \pm 44,1$).

При исследовании функции внешнего дыхания (ФВД) у всех больных выявлено нарушение вентиляции по обструктивному типу. Показатель объема форсированного выдоха за 1 с (ОФВ₁) в среднем составил $65,4 \pm 4,3\%$ от должного.

При морфометрическом исследовании эозинофилов крови исходно выявлены клетки с достоверно увеличенными основными показателями по сравнению с контролем (табл.1). Это может свидетельствовать об активации эозинофилов при обострении БА, что согласуется с литературными данными [13,14]. Морфометрические показатели эозинофилов мокроты также представлены в табл.1.

При проведении корреляционного анализа между относительными показателями числа эозинофилов крови и мокроты у больных в период обострения выявлена сильная достоверная связь ($r = 0,89$; $p < 0,05$). В этот же период имелась такой же силы и направленности связь между концентрацией IgE и ЭКП сыворотки ($r = 0,70$; $p < 0,05$). В процессе и после лечения зависимости не обнаружено, что может свидетельствовать об уменьшении степени воспаления.

В процессе 4-недельного лечения наблюдалось улучшение клинического состояния больных (резкое урежение приступов удушья, уменьшение одышки и кашля, облегчение отхождения мокроты или ее отсутствие), что выражалось в достоверном уменьшении значений

симптомов БА до 0,18—0,53 и суммы баллов до $4,3 \pm 0,8$ ($p < 0,05$). По результатам лабораторных методов исследований обнаружено достоверное снижение абсолютного числа эозинофилов крови в 2,3 раза, числа эозинофилов мокроты — в 2,2 раза, доли дегранулированных форм эозинофилов мокроты — в 3,1 раза ($p < 0,005$). Концентрация ЭКП сыворотки снизилась до $29,2 \pm 0,8$ мкг/л, а уровень общего IgE уменьшился на 32% по сравнению с исходным показателем. Такое значимое уменьшение эозинофилии крови и мокроты, а также снижение концентрации ЭКП сыворотки может быть связано с эозинопеническим действием проводимого лечения, включавшего ГКС, кромогликат натрия, β_2 -агонисты и метилксантин. Это согласуется с данными большинства авторов [10,14,16,17,19,20].

При исследовании ФВД после лечения выявлено значительное улучшение бронхиальной проходимости, о чем свидетельствует достоверный прирост показателя ОФВ₁ на 28% от должного ($p < 0,001$) по сравнению с исходным значением.

При морфометрическом исследовании эозинофилов крови в конце курса лечения обнаружены клетки с меньшими показателями ПК и ПЦ и увеличенными ПЯ по сравнению с исходными значениями. Это, по-видимому, связано с изменением пула эозинофилов и поступлением их из желудочно-кишечного тракта, легких и селезенки и/или усиленным эозинофилопозом у больных БА. Выявленные морфометрические изменения эозинофилов крови в процессе лечения, возможно, носят компенсаторно-приспособительный характер, направленный на поддержание оптимальных ядерно-цитоплазматических взаимоотношений в клетках при нормализации клинического состояния больных.

При исследовании морфометрических параметров эозинофилов мокроты в процессе лечения наблюдалась недостоверная тенденция к уменьшению показателей ПК и ПЦ при достоверном увеличении значения ПЯ и ЯЦО.

Проведенный корреляционный анализ между числом эозинофилов периферической крови и уровнем общего IgE сыворотки исходно, в процессе и в конце лечения не выявил связи. Это согласуется с литературными данными [6].

В процессе лечения обнаружена умеренная достоверная прямая корреляционная зависимость между снижением числа эозинофилов крови и концентрации ЭКП сыворотки ($r = 0,67$; $p < 0,05$), что свидетельствует об уменьшении степени эозинофильного воспаления. Также наблюдалась достоверная сильная обратная корреляционная связь между снижением абсолютного числа эозинофилов крови и изменением показателя ОФВ₁ ($r = -0,69$; $p < 0,005$) — рис.1. Подобная связь числа эозинофилов крови с показателями ФВД получена в исследованиях ряда авторов [11,12]. Кроме того, в процессе лечения появлялась сильная достоверная обратная зависимость между приростом показателя ОФВ₁ и снижением концентрации ЭКП сыворотки ($r = -0,83$; $p < 0,05$). Наличие таких связей косвенно свидетельствует о тесной взаимозависимости между активностью эозинофильного воспаления и степенью проходимости дыхательных путей.

Таким образом, нами показано, что степень воспаления в стенке бронхиального дерева, которая оценивалась по морфологическим и функциональным показателям эозинофила, строго коррелирует с клиническим течением БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Международный консенсус по проблемам диагностики и лечения бронхиальной астмы: Резюме докладов.— СПб., 1992.
2. Федосеев Г.Б., Хлопотова Г.П. Бронхиальная астма.— Л.: Медицина, 1988.
3. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма: глобальная стратегия // Тер. арх.— 1994.— № 3.— С.3—8.
4. Bousquet J., Chané P., Lacoste J.Y. et al. Eosinophilic inflammation in asthma // N. Engl. J. Med.— 1990.— Vol. 323, № 15.— P.1033—1039.
5. Bousquet J., Chané P., Vignola A.M. et al. Eosinophil inflammation in asthma // Am. J. Respir. Crit. Care Med.— 1994.— Vol.150.— P.S33—S38.
6. Chabasse D., Sabbah A., Drouet M., Hosquet P. Eosinophilie sanguine et taux d'IgE. Frequence et etude comparee dans l'atopie // Rev. franc. Allerg.— 1980.— Vol.20, № 3.— P.125—130.
7. Frigas E., Motojima S., Gleich G.J. The eosinophilic injury to the mucosa of the airways in the pathogenesis of bronchial asthma // Eur. Respir. J.— 1991.— Suppl.13.— P.123s—135s.
8. Gleich G.J., Flavahan N.A., Fujisawa T., Vanhoutte P.M. The eosinophil as a mediator of damage to respiratory epithelium: A model for bronchial hyperreactivity // J.Allergy Clin. Immunol.— 1988.— Vol.81.— P.776—781.
9. Global Strategy for Asthma Management and Prevention NHLBI/WHO Workshop Report. National Heart, Lung, and Blood Institute.— Washington, 1995.— P.176.
10. Gorski P., Palczynski C. Eosinophils in bronchial asthma // Allergol. et Immunopathol. 1989.— Vol.17, № 2.— P.113—116.
11. Griffin E., Hakansson L., Formgren H. et al. Blood eosinophil number and activity in relation to lung function in patients with asthma and with eosinophilia // J. Allergy Clin. Immunol.— 1991.— Vol.87.— P.548—557.
12. Horn B.R., Robbin E.D., Theodore J., von Kessel A. Total eosinophil counts in the management of bronchial asthma // N.Engl.J. Med.— 1975.— Vol.292.— P.1152—1155.
13. Kroegel C. The role of eosinophils in asthma // Lung.— 1990.— Vol.168, Suppl.— P.5—17.
14. Kroegel C., Matthys H. Mit dem eosinophilen Granulozyten assoziierte Erkrankungen. Neue pathogenetische und therapeutische Aspekte // Arzneimitteltherapie.— 1992.— Bd 10, № 5.— S.140—151.
15. Laitinen L.A., Laitinen A., Haahtela T. Airway mucosal inflammation even in patients with newly diagnosed asthma // Am. Rev.Respir.Dis.— 1993.— Vol.147.— P.697—704.
16. MacLeod D., Djukanovic R. Low-dose Theophylline: a new anti-inflammatory role in asthma management? // Monaldi Arch. Chest.Dis.— 1996.— Vol.51, № 1.— P.30—34.
17. Manolitsas N.D., Wang J., Devalia J.L. et al. Regular albuterol, nedocromil sodium, and bronchial inflammation in asthma // Am. J. Respir. Crit. Care Med.— 1995.— Vol.151, № 6.— P.1925—1930.
18. Spry C.J.F. Eosinophils: a Comprehensive Review, and Guide to the Scientific and Medical Literature.— Oxford: Oxford Univ. Press, 1988.
19. Teixeira M.M., Williams T.J., Hellewell P.G. Anti-inflammatory effects of a short-acting and a long-acting beta-2-adrenoceptor agonist in guinea pig skin // Eur.J.Pharmacol.— 1995.— Vol.272.— P.185—193.
20. Zimmerman B., Lanner A., Enander I. et al. Total blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein and eosinophil protein X in childhood asthma: relation to disease status and therapy // Clin.Exp. Allergy.— 1993.— Vol.23.— P.564—570.