

УДК 616.24:577.121.7

ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ КАК МИШЕНИ СИСТЕМНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Т.В. ПАВЛОВА¹, К.И. ПРОЩАЕВ^{1,2}**А.И. ИЛЬНИЦКИЙ², Н.И. ЖЕРНАКОВА¹****К.С. АЗАРОВ³, Г.И. ГУРКО³**

¹Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

²АНО «Научно-исследовательский
медицинский центр «Геронтология»»,
г. Москва

³Санкт-Петербургский институт
биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН

e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

Изучены морфологические, морфофункциональные свойства легочной ткани и сигнальной молекулярное взаимодействие при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) в трех направлениях: ХОБЛ как системная патология, ХОБЛ как возраст-зависимое заболевание, легочная ткань как мишень системных процессов при ХОБЛ.

Ключевые слова: ХОБЛ, возраст, ткань-мишень, системные проявления, сигнальные молекулы.

Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является заболеванием, развитие которого обусловлено преимущественно воздействием экзогенных факторов окружающей среды, курением с длительным, многолетним периодом экспозиции. Первые клинические признаки заболевания начинают появляться в среднем в возрасте около 40 лет, а в то время как развернутая клиническая картина – в возрасте старше 60 лет, т.е. в пожилом. В этой связи ХОБЛ с полным правом можно рассматривать как возраст-ассоциированную патологию [1, 2, 5].

Необходимо отметить, что в настоящее время вопросы формирования дыхательных расстройств при ХОБЛ решены в достаточной степени. Однако серьезных научных исследований требуют те же проблемы, которые находятся на повестке дня современной гериатрии. В первую очередь, это проблемы полиморбидности, системных проявлений различных заболеваний, их влияния на качество жизни пациента пожилого и старческого возраста, возможностей повышения активности пациента посредством проведения реабилитационных мероприятий [4].

В случае с ХОБЛ у гериатрического контингента пациентов наблюдается целый ряд ассоциированных с дыхательными, гипоксическими расстройствами клинических состояний, которые патогенетически характеризуются недостаточностью ряда сигнальных молекул – тестостерона, опиоидных гормонов; при ХОБЛ формируется вторичный миопатический синдром, в значительной степени снижающий возможности передвижения; при присоединении ожирения и артериальной гипертензии развивается синдром обструктивных апноэ во время сна, в достоверной степени влияющий не только на качество жизни, но и способствующий снижению ее продолжительности [4].

Все эти патологические состояния и обуславливает тот системный фон, который дополняет классическую симптоматику дыхательных расстройств при ХОБЛ и наряду с ней вносит свой вклад в ухудшение функционирования пожилого человека [3, 6, 7]. Однако до сей поры редко встречается системный подход к ХОБЛ как к заболеванию, при котором внелегочные, системные проявления, играют не меньшую роль в формировании дезадаптации пожилого человека, чем собственно дыхательная недостаточность [5]. Таким образом, актуальной проблемой современной медицины геронтопульмонологии является рассмотрение ХОБЛ как патологии с выраженными системными проявлениями и рассмотрение легочной ткани как мишени системных проявлений ХОБЛ.

Цель работы – изучить морфологические и биохимические составляющие патогенеза ХОБЛ как системного возраст-ассоциированного заболевания.



Материал и методы исследования. Исследование состояло из двух разделов. Первый раздел – исследование сигнального молекулярного взаимодействия при ХОБЛ. Было сформировано две группы пациентов (все – мужчины), в одну из них вошли люди среднего, пожилого и старческого возраста, страдающие ХОБЛ средней степени тяжести, в другую – пациенты с ХОБЛ и с возрастным андрогенным дефицитом (ВАД) как системным проявлением ХОБЛ. Группы подразделялись на подгруппы в зависимости от возраста пациентов. Всего объем выборочной совокупности в данном разделе работы составил 806 человек, из которых пациентов с ХОБЛ было 407, при этом 129 человек находилось в среднем возрасте ($56,4 \pm 1,2$ лет), 141 – в пожилом ($65,1 \pm 1,6$ лет), а 137 – в старческом ($77,1 \pm 1,0$ лет). Группу сравнения составили пациенты без ХОБЛ общей численностью 399 человек, из которой в среднем возрасте находились 125 пациентов ($56,7 \pm 1,1$ лет), в пожилом возрасте – 140 ($65,3 \pm 1,5$ лет), в старческом возрасте – 134 пациента ($76,9 \pm 1,1$ лет).

У всех пациентов проводился забор крови для исследования уровня общего и свободного тестостерона с целью выявления возрастной динамики данного гормона, а также влияния на эту динамику ХОБЛ средней степени тяжести. Диагноз андрогенного дефицита считался подтвержденным в том случае, если снижение уровня тестостерона коррелировало с клинической симптоматикой его недостаточности, определенной согласно «Опроснику старения мужчин» (AMS-опросник).

Оксидативные изменения изучены на основе содержания про- (малоновый диальдегид, МДА) и антиоксидативных факторов (сульфгидрильные SH-группы), комплексная оценка оксидативному стрессу дана по величине коэффициента SH/МДА.

Нейроиммуноэндокринная картина особенностей развития андрогенного дефицита представлена на основе анализа продукции сигнальных молекул, которые синтезируются, в том числе, клетками бронхолегочной ткани: мелатонин (М); серотонин (5-HT); эндотелин (ЕТ-1); соматостатин (ST); натрий-уретический пептид (NPY), кальцитонин-ген-родственный пептид (CGRP).

Провоспалительные изменения выявлены на основе анализа уровней наиболее значимых сигнальных молекул в отношении формирования иммуновоспалительных реакций – интерлейкинов 1, 2, 6 (IL-1, IL-2, IL-6) и фактора некроза опухоли (TNF- α).

Второй раздел – микроскопические исследования фрагментов легких (материал в связи с оперативным вмешательством по поводу онкологической патологии легких, исследование проводилось в онкологически неповрежденных участках). Было обследовано 10 пациентов пожилого возраста (от 60 до 69 лет, средний возраст $65,6 \pm 2,5$ года, и 8 пациентов в возрасте от 50 до 55 лет, средний возраст $53,5 \pm 2,5$ года). Все реципиенты были мужчины. Ультрамикроскопическое исследование проводилось с использованием светового микроскопа «Topic-T» Ceti, растрового микроскопа FE1 Quanta 200 3D. Для исследования методом световой микроскопии препараты фиксировались в растворе 10 % забуференного формалина с последующим приготовлением парафиновых блоков. С каждого блока делались серийные срезы толщиной 5 мкм на ротационном микротоме Leica RM2135. Срезы окрашивались гематоксолин-эозином и подвергались исследованию в световом микроскопе «Topic-T» Ceti при помощи цветной одноматричной видеокамеры «Baumer1»; проведен морфометрический анализ; использована программа обработки изображения «Видео-Тест Размер». Проводилась оценка индекса Рейда (отношение толщины желез подслизистой основы к толщине всей стенки бронха).

Для растровой электронной микроскопии изучаемые кусочки сразу опускали в 37° 0,85% изотонический раствор натрия хлорида и промывали в 2-3 пробах свежеприготовленного изотонического раствора натрия хлорида. В последней его порции образцы держали в течение 2-3 часов при комнатной температуре. После этого пробы опускали в 37° фиксирующую смесь: 2% глутаральдегид на 0,15 М фосфатном буфере с рН 7,2-7,4. В фиксирующей смеси пробы держали в холодильнике (от 2-х суток до месяца). Для электронной микроскопии образцы фиксировали в стандартном глутаральдегидовом фиксаторе и затем просматривали в растровом микроскопе FE1 Quanta 200 3D, а также FE1 Quanta 600 FEG. Элементный анализ был сделан с использовани-

ем детектора для регистрации спектров характеристического рентгеновского излучения фирмы EPIX, детекторы интегрированы с растровым электронным микроскопом Quanta 600 FEG.

Для исследования методом световой микроскопии были изготовлены стандартные мазки крови и подвергались исследованию в световом микроскопе «Topic-T» Ceti при помощи цветной одноматричной видеокамеры «Vauher1»; проводился морфометрический анализ; использована программа обработки изображения «Видео-Тест Размер».

Результаты обрабатывались стандартными математико-статистическими методами.

Результаты исследования и их обсуждение. Обращало на себя внимание, что во всех легких не в зависимости от возрастных групп мы отмечали фрагменты с признаками хронического бронхита. Стенки бронхов становились утолщенными, окружались прослойками соединительной ткани, иногда отмечалась деформация бронхов (рис.1). Гиперплазия слизистых желез являлась одним из основных морфологических признаков хронического бронхита. Индекса Рейда (отношение толщины желез подслизистой основы к толщине всей стенки бронха) при этом равнялся в группе пожилых больных – $0,59 \pm 0,06$, у людей среднего возраста – $0,52 \pm 0,08$ (при норме $0,44 \pm 0,09$). Наблюдались изменения на уровне средних бронхов, которые были наиболее хорошо выражены в группе с пожилыми больными.

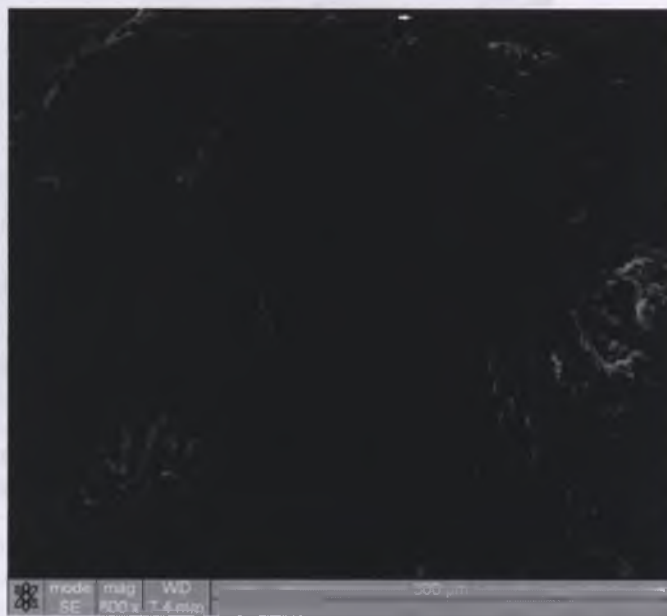


Рис. 1. Фрагмент ткани легких у пациента в возрасте 65 лет (наблюдается склероз стенки мелких бронхов, нарушение складчатости эпителия), РЭМ, х 600

У части больных, как пожилого, так и среднего возраста, были выявлены бронхоэктазы. Они носили локальный характер. Наиболее часто поражали бронхи нижней доли правого легкого. При микроскопическом исследовании в полости части бронхоэктазов был обнаружен гнойный экссудат, содержащий микробные тела и спущенный эпителий. Покровный эпителий представлен оголенными базальными клетками, очагами полипоза и плоскоклеточной метаплазии. Базальная мембрана была гиалинизирована, имела гофрированный вид. Обнаруживались дистрофия и разрушение хрящевой пластинки бронха, атрофия и разрушения мышечного и эластического слоев, склероз и диффузная гистиолимфоцитарная воспалительная инфильтрация всех слоев стенки бронхоэктаза с примесью полиморфно-ядерных лейкоцитов (рис. 2, 3). В прилежащей легочной паренхиме наблюдаются поля фиброза, очаги обструктивной эмфиземы легких. При этом можно было выделить три основных морфологических варианта эмфиземы: центроацинарную, парасептальную и панацинарную.

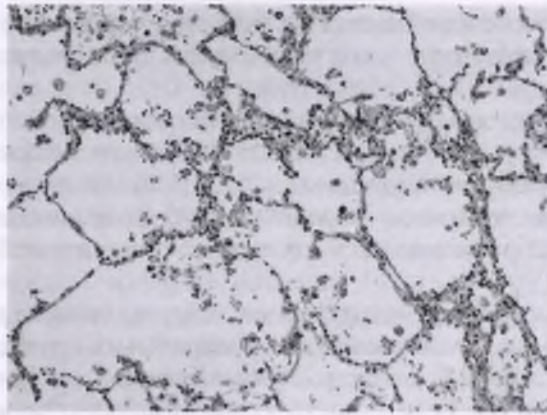


Рис. 2. Хроническая эмфизема у пациента в возрасте 68 лет (склероз стенки бронхов, разрушение перегородок, расширение полостей, в просвете эритроциты), окраска гематоксилином и эозином, х 100



Рис. 3. Хроническая эмфизема у пациента в возрасте 68 лет (склероз стенки бронхов, разрушение перегородок, расширение полостей, в просвете – эритроциты), РЭМ, х 2400

Из других обнаруженных процессов следует отметить идиопатический фиброзирующий альвеолит, очаги ателектаза легочной ткани, обширные поля склероза, занимающие значительные площади. Дисрегенераторные изменения легочного эпителия могут в дальнейшем привести к развитию рака легкого. Помимо перечисленных изменений в легких были выявлены полнокровные участки.

Изучение сигнального молекулярного взаимодействия показало следующее.

Выявлено, что у пожилых пациентов с ХОБЛ и синдромом ВАД имело место достоверное снижение содержания маркеров антиоксидантной защиты и увеличение содержания МДА как показателя, который может характеризовать течение прооксидантных процессов (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика оксидативного гомеостаза у лиц пожилого возраста с наличием и отсутствием возрастного андрогенного дефицита

Показатель	Здоровые пожилые люди без андрогенного дефицита	Пожилые люди с ХОБЛ и андрогенным дефицитом
МДА (мкмоль/л)	32,6 ± 1,1	41,3 ± 1,0*
SH (мкмоль/л)	316,2 ± 10,2	292,1 ± 7,6*
SH / МДА	9,9 ± 0,1	7,1 ± 0,3*

* $p < 0,05$ по сравнению с группой без возрастного андрогенного дефицита.



При изучении особенностей нейроиммуноэндокринного статуса у пациентов с ХОБЛ и возрастным андрогенным дефицитом выявлено следующее.

Установлено, что у здоровых людей значение показателя экскреции М в среднем возрасте составило $1021,3 \pm 21,0$ нг/час, в пожилом возрасте без патологии имело место недостоверное снижение экскреции М, оно составило $949,4 \pm 18,7$ нг/час, $p > 0,05$. На фоне ХОБЛ средней степени тяжести отмечались достоверно меньшие значения экскреции М как в среднем, так и в пожилом возрасте ($689 \pm 15,4$ нг/час и $554 \pm 12,6$ нг/час соответственно, $p < 0,05$).

Содержание 5-НТ также подвержено возрастным колебаниям, но у лиц без ХОБЛ отмечено недостоверное снижение содержания данной сигнальной молекулы в пожилом возрасте по сравнению со средним – $84,7 \pm 5,9$ пг/мл и $79,3 \pm 6,1$ пг/мл, соответственно. При ХОБЛ с ВАД нами было выявлено достоверно более высокое содержание 5-НТ в обеих возрастных группах, при этом в пожилом возрасте уровень сигнальной молекулы достоверно увеличивался – $102,7 \pm 9,7$ пг/мл и $124,5 \pm 8,1$ пг/мл, соответственно, $p < 0,05$.

Содержание ЕТ-1 при отсутствии патологии имело недостоверную возрастную тенденцию к снижению: в среднем возрасте содержание молекулы составляло $64,5 \pm 3,8$ пг/мл, в пожилом возрасте – $66,9 \pm 4,2$ пг/мл, $p > 0,05$. При ХОБЛ с андрогенным дефицитом уровни ЕТ-1 были достоверно более высокими, а в возрастном аспекте отмечалось достоверное увеличение содержания молекулы у пожилых, соответственно, $85,7 \pm 4,1$ пг/мл и $102,5 \pm 3,4$ пг/мл, $p < 0,05$.

По отношению к ST нами были выявлены следующие закономерности. Как в группе здоровых лиц, так и пациентов с ХОБЛ отмечалось достоверное увеличение продукции сигнальной молекулы, но при ХОБЛ возрастная динамика увеличения продукции соматостатина носила достоверно более выраженный характер. Так, у лиц без ХОБЛ в среднем возрасте уровень ST был $44,1 \pm 2,7$ пг/мл, в пожилом возрасте – $52,3 \pm 1,5$ пг/мл; в группе пациентов с ХОБЛ – соответственно, $45,3 \pm 3,1$ пг/мл и $64,8 \pm 1,6$ пг/мл, $p < 0,05$.

В группе лиц без андрогенного дефицита отмечалась недостоверная динамика к снижению NPY с возрастом: в среднем возрасте – $94,7 \pm 7,9$ пг/мл, у пожилых – $92,8 \pm 6,7$ пг/мл, $p > 0,05$. В группе пациентов с ХОБЛ имели место достоверно более низкие значения NPY как в среднем возрасте, так и в пожилом, причем уровни молекулы в пожилом возрасте характеризовались достоверно более низкими значениями – $75,1 \pm 5,6$ пг/мл и $62,5 \pm 4,8$ пг/мл, соответственно, $p < 0,05$.

Изучение уровней CGRP у лиц без андрогенного дефицита позволило выявить отсутствие достоверной возрастной динамики содержания сигнальной молекулы: средний возраст – $41,4 \pm 1,2$ пг/мл, пожилой возраст – $40,1 \pm 0,9$ пг/мл, $p > 0,05$. При ХОБЛ содержание CGRP было достоверно более низким, а в пожилом возрасте содержание молекулы было достоверно более низким, чем в среднем возрасте – $32,5 \pm 1,4$ пг/мл и $27,5 \pm 1,7$ пг/мл, соответственно, $p < 0,05$ (табл. 2).

Таблица 2

Уровень сигнальных молекул у людей разного возраста при хронической обструктивной болезни легких и андрогенном дефиците

Сигнальная молекула	ХОБЛ без андрогенного дефицита		ХОБЛ с андрогенным дефицитом	
	Средний возраст	Пожилой возраст	Средний возраст	Пожилой возраст
Мелатонин (нг/час)	$1021,3 \pm 21,0$	$949,4 \pm 18,7$	$832,3 \pm 17,4^*$	$675,9 \pm 18,5^{*,**}$
Серотонин (пг/мл)	$84,7 \pm 5,9$	$79,3 \pm 6,1$	$102,7 \pm 9,7^*$	$124,5 \pm 8,1^{*,**}$
Эндотелин (пг/мл)	$64,5 \pm 3,8$	$66,9 \pm 4,2$	$85,7 \pm 4,1^*$	$102,5 \pm 3,4^{*,**}$
Соматостатин (пг/мл)	$44,1 \pm 2,7$	$52,3 \pm 1,5$	$45,3 \pm 3,1^*$	$64,8 \pm 1,6^{*,**}$
Натрий-уретический пептид (пг/мл)	$94,7 \pm 7,9$	$92,8 \pm 6,7$	$75,1 \pm 5,6^*$	$62,5 \pm 4,8^*,**$
Кальцитонин-генеродственный пептид (пг/мл)	$41,4 \pm 1,2$	$40,1 \pm 0,9$	$32,5 \pm 1,4^*$	$27,5 \pm 1,7^*,**$

* $p < 0,05$ между пациентами при наличии и отсутствии андрогенного дефицита,

** $p < 0,05$ между пациентами среднего и пожилого возраста.



Интересным является тот факт, что степень изменений в легочной ткани достоверно ($p < 0,05$) коррелирует с напряженностью сигнального молекулярного взаимодействия.

Заключение. Развитие ХОБЛ сопряжено с факторами, характеризующимися нейроиммуноэндокринной агрессией, такими как курение, поллютанты окружающей среды. Эти данные актуализируют вопрос изучения общепатологических механизмов развития ХОБЛ, в том числе ее внелегочных проявлений. Для хронической обструктивной болезни легких в пожилом и старческом возрасте характерно развитие достоверно более выраженных по сравнению со средним возрастом и других соматических заболеваний прооксидантных и нейроиммуноэндокринологических изменений, которые являются патологической базой для формирования системных эффектов заболевания, носящих возраст-зависимый характер, таких, например, как андрогенный дефицит. В тоже время, с большой долей вероятности можно утверждать, что эти системные изменения вторично действуют на уже пораженную легочную ткань, усугубляя выраженность местных процессов. А в легких в течение жизни накапливаются изменения, характерные для хронических неспецифических заболеваний легких, при этом наблюдаются участки с эмфиземой, последствием хронического бронхита, эмфиземой, бронхоэктатической юлезью, карусением кровообращения в виде полнокровия. Все это в совокупности может усугублять как течение самой ХОБЛ, так и составить фон как предопухолевые процессы и способствовать развитию онкопатологии, в том числе, рака легких. Таким образом, легочную ткань можно рассматривать как ткань-мишень системных и возрастных процессов при ХОБЛ.

Литература

1. Багишева, Н.В. Состояние окружающей среды и заболеваемость хронической обструктивной патологией легких / Н.В. Багишева // Кубанский научный медицинский вестник. 2009. – №6 – С. 87 – 90.
2. Бахтинова, Е.А. Клинико-морфологические аспекты хронической обструктивной болезни легких / Е.А. Бахтинова. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2007. – Т. 6 – №2 – С. 1-12.
3. Гурко, Г.И. Нейроэндокринные эффекты физической реабилитации пожилых военнослужащих с хронической обструктивной болезнью легких / Г.И. Гурко // Геронтологический журнал им. В.Ф. Купревича. – 2010. – № 3. – С. 53-56.
4. Ильницкий, А.Н. Особенности ведения пожилых пациентов с хронической обструктивной болезнью легких/ А.Н.Ильницкий, Г.И. Гурко, Н.И. Жернакова, И.С. Захарова, К.В. Перелыгин, Д.С. Медведев, М.М. Киселевич, А. Пожаркис // Клиническая медицина. – 2012. – № 2. – С. 21-24.
5. Чучалин, А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких и сопутствующие заболевания Часть II. ХОБЛ и икардиальные поражения / А.Г. Чучалин // Российский медицинский журнал. – 2008. Т. 16. – №5 – С. 1653- 1659.
6. Grineski, S. Coping with asthma in the central city: parental experiences with children's health care / S. Grineski // J Health Care Poor Underserved. – 2008. – Vol. 19. – N 1. P. 227-236.
7. Nussbaumer-Ochsner, Y. Systemic manifestations of COPD / Y.Nussbaumer-Ochsner, K.F.Rabe // Chest. – 2011. – Vol. 139, N1. – P. 165-173.



INNOVATED APPROACHES TO ESTIMATION OF PULMONARY TISSUE AS TARGET OF SYSTEMIC PROCESSES IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES

**T.V. PAVLOVA¹, K.I. PRASHCHAYEU^{1,2}
A.N. ILNITSKI², N.I. JERNAKOVA¹,
K.S. AZAROV³, G.I. GURKO³**

¹Belgorod National Research University

²Research Medical Centre "Gerontology", Moscow

³Institute of Bioregulation and Gerontology, S.-Petersburg

e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

The morphological and morphofunctional characteristics of pulmonary tissue and signal molecular correlations in patients with chronic obstructive pulmonary diseases (COPD) are described in this article. We had investigations in three aspects: COPD as systemic pathology, COPD and age, pulmonary tissue as target of systemic processes.

Ключевые слова: COPD, age, target tissue, systemic processes, signal molecules.