

УДК: 616. 24-091.8-06:616.12-008.46-036.12:612.017
© Клименко Н.А., Павлова Е.А., Сорокина И.В., 2009

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТКАНИ ЛЕГКОГО ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Клименко Н.А., Павлова Е.А., Сорокина И.В.

Харьковский национальный медицинский университет

Клименко Н.А., Павлова Е.А., Сорокина И.В. Морфофункциональные особенности ткани легкого при хронической сердечной недостаточности // Украинський морфологічний альманах. – 2009. – Т.7, № 2. – С. 52-55.

При выяснении участия клеток иммунной системы в местных иммунных реакциях легких при хронической сердечной недостаточности с помощью морфологических и иммуногистохимических методов установлено, что в базальных мембранах эпителия легких усиливается синтез коллагена IV типа, в интерстиции - в первую очередь молодого коллагена III типа и в меньшей степени зрелого коллагена I типа. В ткани легкого выявлена относительная активация T-клеточных популяций, что приводит к увеличению продукции IL-6, в то время как снижение количества макрофагов приводит к снижению продукции IL-1.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, бронхоассоциированная лимфоидная ткань, иммунокомпетентные клетки.

Клименко М.О., Павлова О.О., Сорокина И.В. Морфофункціональні особливості тканини легень при хронічній серцевій недостатності // Український морфологічний альманах. – 2009. – Т.7, № 2. – С. 52-55.

При з'ясуванні участі клітин імунної системи в місцевих імунних реакціях легень при хронічній серцевій недостатності за допомогою морфологічних і імуногістохімічних методів встановлено, що в базальних мембранах епітелію легень посилюється синтез колагену IV типу, в інтерстиції - в першу чергу молодого колагену III типу і в меншому ступені зрілого колагену I типу. В тканині легень виявляється відносна активація T-клітинних популяцій, що сприяє збільшенню продукції IL-6, у той час як дефіцит макрофагів призводить до зниження продукції IL-1.

Ключові слова: хронічна серцева недостатність, бронхоасоційована лімфоїдна тканина, імунокомпетентні клітини

Klimenko N.A., Pavlova Ye.A., Sorokina I.V. Morphofunctional particularities of lung tissue during chronic cardiac insufficiency // Український морфологічний альманах. – 2009. – Т.7, № 2. – С. 52-55.

During finding out the role of cells of immune system in local immune reactions of lungs in chronic cardiac insufficiency with the help of morphological and immunohistochemical methods it is established that in the basal membranes of the lung epithelium the type IV collagen synthesis is intensified, in interstices - young type III collagen and in lesser degree type I collagen. There is relative activation of T-lymphocyte populations which promotes increasing of IL-6 production, while deficit in macrophages number results in decrease of IL-1 production.

Key words: chronic cardiac insufficiency, broncho-associated lymphoid tissue, immunocompetent cells.

Сердечно-сосудистые заболевания являются наиболее распространенной патологией, занимают одно из первых мест среди причин инвалидности и смертности, и давно приобрели статус важнейшей медико-социальной проблемы. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) - одна из самых распространенных нозологических единиц, приводящих к развитию тяжелых осложнений, в том числе и к хронической сердечной недостаточности (ХСН) [1]. ХСН сопровождается нарушением микроциркуляции, в том числе и в малом круге, воспалительным повреждением тканей и, видимо, нарушением как клеточного, так и гуморального, общего и местного иммунитета [2-6]. Иммунная система легких человека в воздухоносных путях представлена бронхоассоциированной лимфоидной тканью (БАЛТ), располагающейся в толще покровного эпителия, возле желез и в их строме [7-9]. Среди клеток преобладают ретикулярные клетки, макрофаги, лимфоциты, плазматические клетки, фибробласты. БАЛТ играет важную роль в местных защитных реакциях легких, особенно при антигенных воздействиях и воспалительных заболеваниях, обеспечивая сохранение функции слизистой оболочки и, видимо, определяя тяжесть, длительность заболевания и развитие осложнений [10,11]. Поэтому актуальным является изучение местного иммунного ответа легких при различных патологических процессах.

Целью настоящего исследования явилось

изучение морфологических и иммуногистохимических изменений легких при хронической сердечной недостаточности для получения более полного представления об участии клеток иммунной системы в местных иммунных реакциях.

Материалы и методы. Исследованы легкие в 18 аутопсийных наблюдениях (судебно-медицинский материал) у лиц зрелого и пожилого возраста (35 - 65 лет). Причинами смерти в 9 случаях была внезапная острая сердечная недостаточность (ОСН) - контроль и в 9 - ХСН. Во всех наблюдениях исключены воспалительные заболевания на основании макро- и микроскопического исследования. Материал фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина и после спиртовой проводки подвергали парафиновой проводке. Готовили серийные срезы толщиной 4-5x10⁻⁶м. Обзорные препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовали для общей оценки состояния исследуемых тканей. Окрашивание препаратов фукселеном на эластические волокна по Вейгерту с докрасиванием пикрофусином по методу ван Гизон использовали для выявления и дифференцировки соединительнотканых структур. С помощью ШИК-реакции по Мак-Манус-Хочкинсу (контроль с амилазой) выявляли нейтральные мукополисахариды. Изучение микропрепаратов проводилось с помощью микроскопа Olympus VX-41 с последующим видеомикроскопическим фотографированием. Относительные объемы основных структурных компонентов и

плотность иммунных клеток определяли на микроскопе Olympus BX-41 с помощью программы Olympus DP-Soft (Version 3:1).

Имуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 5-6 мкм непрямым и прямым методами Кунса по методике Brosnan. Иммунные клетки дифференцировали с помощью моноклональных антител (МКА) фирмы «Serotec» к различным клонам клеток: CD3 (общая популяция Т-лимфоцитов), CD22 (общая популяция В-лимфоцитов), CD8 (Т-супрессоры цитотоксические), CD4 (Т-хелперы), CD56 (моноциты/макрофаги), CD18 (нейтрофильные гранулоциты), Ig A-, M-, и G-, а также ИЛ-1- и ИЛ-6-продуцирующим клеткам. Коллагены типировали МКА к коллагенам I, IV (Novocastra Laboratories Ltd) и III (ИМТЕК Ltd, Россия) типов. В качестве люминисцентной метки использовали F (ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченные ФИТЦ. Препараты изучали в люминисцентном микроскопе ЛЮ-МАМ-И2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Интенсивность свечения коллагенов определяли на микрофлюориметре с ФЭУ-35 и выражали в условных единицах, равных току, протекающему через измерительный прибор, выраженных в микроамперах (мкА). Относительные объемы основных клонов иммунных клеток определяли с помощью сетки Г.Г.Автандилова в люминисцентном микроскопе. Все цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики на персональном компьютере с использованием программного пакета «Statgraph».

Результаты исследований и их обсуждение. В изученном материале кусочков легочной ткани людей, умерших от ХСН, также как и в группе умерших от ОСН, выявлялись мелкие бронхи, бронхиолы и альвеолярная паренхима. В мелких бронхах довольно четко была выражена мышечная пластинка слизистой оболочки, в которой отмечены дистрофические изменения в виде глыбчатой зернистости в цитоплазме миоцитов. Эпителий, выстилающий бронхи, преимущественно однорядный, местами двухрядный, кое-где уплотненный, с признаками очаговой десквамации и слабо выраженной регенерации. Эпителиальные базальные мембраны были несколько утолщены и неравномерно ШИК-позитивны - преобладали участки яркомалинового окрашивания, чередующиеся с зонами умеренного окрашивания. В составе эпителиальных бронхиальных мембран было выявлено неравномерное свечение коллагена IV типа. Отмечались зоны как яркого, так и умеренного свечения, однако преобладали зоны яркого свечения. Также как и в группе ОСН, при ХСН в зонах яркой ШИК-реакции отмечалось яркое свечение коллагена IV типа, а в зонах умеренной ШИК-реакции свечение было умеренным. В терминальных бронхиолах реснитчатый эпителий был однорядным, местами уплотненным и десквамированным. В цитоплазме эпителиоцитов выявлялись дистрофические изменения. Эпителиальные базальные мембраны были неравномерно ШИК-позитивны, очагово утолщены, неравномерно накапливали коллаген

IV типа. В зонах утолщения и яркой ШИК-реакции отмечалось яркое свечение коллагена IV типа. Практически во всех наблюдениях в просветах мелких бронхов и бронхиол отмечались умеренно эозинофильные гомогенные жидкие массы, по-видимому, отечная жидкость. Признаки отека были выявлены и в альвеолярной ткани. Эозинофильная жидкость, содержащая немногочисленные десквамированные альвеолоциты, макрофаги, нейтрофилы и лимфоциты, выявлялась в просвете альвеол. При этом в одних наблюдениях отек был более распространен, в других менее распространен (рис 1).

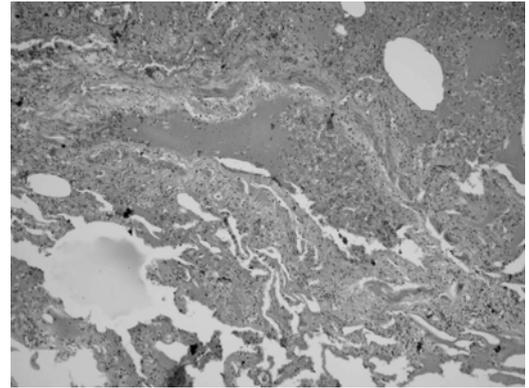


Рис.1. Выраженный отек легочной ткани, диспепсические кровоизлияния и склероз в легких при ХСН. Окраска гематоксилином и эозином, x 200.

Альвеолы, свободные от отечной жидкости, часто находились в состоянии эмфизематозного вздутия. Межальвеолярные перегородки по сравнению с контролем были утолщены и более густоклеточны. В их составе отмечались оба типа интерстициальных коллагенов - I и III типов. Также как и в группе контроля, преобладал коллаген III типа, при этом интенсивность его свечения достоверно превысила контрольный показатель - в 1,17 раза. В отношении более зрелого коллагена I типа сохранялась выявленная в группе ОСН тенденция к повышению его свечения (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1. Интенсивность свечения коллагенов в препаратах легкого при ХСН (в мкА)

| Группы наблюдений | Коллаген I типа | Коллаген III типа | Коллаген IV типа |
|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|
| ОСН | 19,0±0,68 | 29,0±0,81 | 9,0±0,66 |
| ХСН | 19,6±0,98 | 34,0±1,1* | 13,0±1,0* |

* - $p < 0,05$ - достоверность различий с контролем

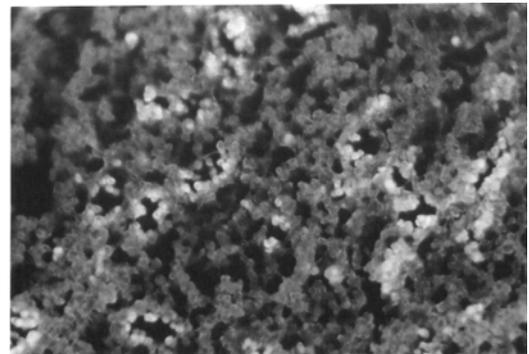


Рис. 2. Очаговое яркое свечение коллагена I типа в составе межальвеолярных перегородок в легких при ХСН. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену I типа, x 600.

Базальная мембрана альвеолоцитов была неравномерно ШИК-позитивна и содержала коллаген IV типа. Отмечено, что если ШИК-реакция была ярко позитивна, то, как правило, в этой зоне отмечалось яркое свечение коллагена IV типа. В целом по сравнению с контролем интенсивность свечения коллагена IV типа в легочной ткани при ХСН достоверно увеличивалась - в 1,4 раза (табл. 1). Располагающиеся на базальных мембранах эпителиоциты 1-го и 2-го типов были еще больше уплощены, очагово десквамированы и имели признаки дистрофических изменений. Также как и в контрольной группе (ОСН), на поверхности эпителиальных бронхиальных и альвеолярных мембран отмечалось очаговое отложение иммунных комплексов, содержащих в своем составе IgM и IgA. По сравнению с контрольной группой распространенность и свечение этих комплексов были выражены сильнее.

Артериолы были неравномерно кровенаполнены, местами сужены или расширены. Базальные мембраны артериол умеренно ШИК-позитивны, местами утолщены. Периартериально отмечены диадезные кровоизлияния. На поверхности базальных мембран артериол была видна очаговая фиксация иммунных комплексов, содержащих IgM, IgA и IgG. Очагово в их составе отмечено яркое свечение коллагена IV типа.

Таблица 2. Иммуногистохимические показатели в препаратах легкого (в %) при ХСН ($M \pm m$, $n=10$)

| Группы исследований | Клетки, экспрессирующие рецепторы | | | | | | | ИЛ-продуцирующие клетки | | Ig-продуцирующие клетки | | |
|---------------------|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|-------------------------|--------------|-------------------------|---------------|----------------|
| | CD3 | CD4 | CD8 | CD22 | CD56 | CD18 | CD4/CD8 | ИЛ-1 | ИЛ-6 | IgM | IgA | IgG |
| ОСН | 48,0± 4,5 | 65,0± 3,8 | 35,0± 2,4 | 49,0± 3,9 | 9,0± 0,6 | 3,0± 0,05 | 1,85± 0,01 | 9,0± 1,1 | 11,0± 1,0 | 22,0± 1,5 | 20,0± 1,9 | 3,6± 0,006* |
| ХСН | 49,0± 3,8 | 64,0± 4,6 | 37,0± 1,9 | 44,0± 4,4 | 6,0± 0,7* | 4,2± 0,08 | 1,72± 0,05 | 7,5± 0,4 | 13,0± 0,9 | 17,0± 0 | 11,0± 1,7* | 1,5± 0,003 |

* - $p < 0,05$ - достоверность различий с контролем

В межальвеолярной ткани и просвете альвеол выявлялись клетки-продуценты иммуноглобулинов, преимущественно IgM, IgA, тогда как IgG выявлялся в виде «следа». Также как и в группе контроля, нейтрофильные гранулоциты (CD18) были единичными.

В БАЛТ при ХСН отмечались все изучаемые нами популяции иммунных клеток - В-лимфоциты (CD22), клетки-продуценты IgM, IgA, IgG, Т-лимфоциты (CD3), в том числе CD4 и CD8, а также макрофаги (CD56) и единичные CD18. Анализ относительных объемов выше указанных клеток свидетельствует, что в легочной ткани умерших от ХСН выявляется достоверный дефицит макрофагов - в 1,5 раза, а также клеток-продуцентов IgA - в 1,8 раза, IgM - в 1,3 раза соответственно по сравнению с контролем. Если при ОСН количество клеток-продуцентов IgG увеличивается, то при ХСН относительный объем их достоверно снижается - в 2,4 раза. Кроме того, отмечается тенденция к уменьшению популяции В-лимфоцитов - в 1,1 раза и к увеличению популяции Т-лимфоцитов - в 1,02. При этом внутри популяции Т-лимфоцитов отмечается еще большее, по сравне-

Эндотелиоциты, как правило, располагались в один слой, местами были с выраженными явлениями десквамации. Ядра клеток были овальными, слабо базофильными, иногда с признаками карнопикноза и каринорексиса. Цитоплазма клеток была умеренно эозинофильна и слабо ШИК-позитивна.

Иммуногистохимические исследования выявили, что основными зонами расположения иммунных клеток в легких умерших от ХСН, также как и в контрольной группе, являлись межальвеолярные перегородки, периваскулярные пространства, а также БАЛТ. Относительные объемы основных клонов иммунных клеток, приведенные в таблице 2, отражают совокупные результаты, полученные при исследовании как альвеолярного, так и бронхиального компонентов легких.

Также как и в контрольной группе, в межальвеолярных перегородках при ХСН иммуногистохимически были обнаружены все основные клоны иммунных клеток - CD3, CD22, CD56. При этом, обращало на себя внимание достоверное уменьшение макрофагальной популяции, а также тенденция к уменьшению В-клеточного компонента местных иммунных реакций. При этом относительно увеличивалась популяция Т-лимфоцитов. Среди популяции Т-лимфоцитов отмечалась тенденция к снижению содержания CD4, и увеличению - CD8.

нию с ОСН, возрастание супрессорной активности, и, как следствие, в 1,07 раза снижается иммунорегуляторный индекс (табл. 2). Сохраняется выявленная нами при ОСН тенденция в отношении изменения количества клеток-продуцентов ИЛ-1 и ИЛ-6. Относительный объем первых достоверно уменьшается - в 1,2 раза, а вторых - наоборот достоверно увеличивается - в 1,18 раза (табл. 2).

Таким образом, в легочной ткани при ХСН отмечаются еще более выраженные, чем при ОСН, склеротические и дистрофические процессы, обусловленные, по видимому, более продолжительной, хронической, гипоксией - вследствие атеросклеротического поражения сосудов сердца, приводящей к развитию ХСН. Склеротические изменения отмечены как в межальвеолярной ткани, периваскулярных и перибронхиальных зонах, так и в базальных эпителиальных мембранах (рис. 3).

Последнее подтверждается усилением синтеза коллагена IV типа в их составе. Склеротические изменения в интерстиции документируются усиленным образованием интерстици-

альных коллагенов, в первую очередь молодого коллагена III типа, и в меньшей степени – зрелого коллагена I типа. Повреждение эпителиальной выстилки, равно как и альвеолярных макрофагов, может быть обусловлено изменением базальных мембран, с одной стороны, и хронической гипоксией, с другой. Для местных иммунных реакций легких при ХСН характерно наличие выраженного дефицита макрофагальной популяции и плазмобластов-продуцентов IgA на фоне относительной недостаточности В-лимфоидного компонента и активации Т-клеточной популяции, внутри которой отмечается нарастание супрессорной функции.

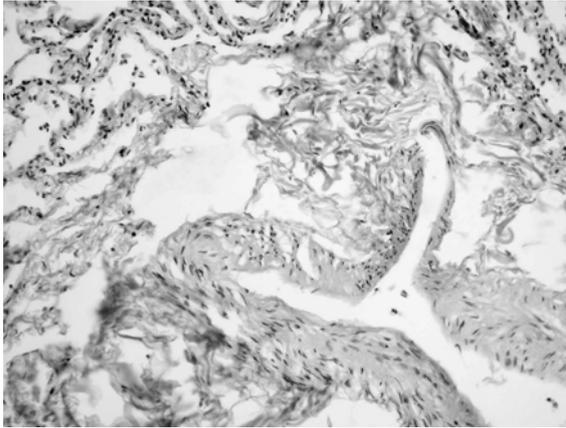


Рис. 3. Выраженный перибронхиальный склероз в легких при ХСН. Окраска пикрофуксином по Ван Гизону, х 200.

Также как и при ОСН, среди иммунных клеток усиливается дефицит ИЛ-1 – и увеличивается содержание ИЛ-6 – продуцирующих клеток. Как и при ОСН, при ХСН дефицит CD56 может быть связан с недостаточностью кровообращения, вследствие чего уменьшается поступление моноцитов, экспрессирующих этот рецептор, в легкие. К иммунопатологическим процессам, развивающимся при ХСН, следует также отнести фиксацию на поверхности эпителиальных базальных мембран иммунных комплексов, состоящих из IgM и IgA, а на сосудистых базальных мембранах еще и IgG. Среди разнообразных влияний иммунных комплексов на ткани общепризнанна их роль в развитии алтерации базальных мембран, и, как результат, повышении сосудистой проницаемости, обусловленной гипоксией, с одной стороны, и усилением явлений дистрофии и некролиза в эпителиоцитах, с другой стороны.

Перспективы дальнейших исследований в данном направлении возможны, в частности, в виде изучения морфофункциональных особенностей ткани легкого при гипостатической пневмонии, развившейся на фоне ХСН.

Выводы:

1. При ХСН склеротические изменения в интерстиции легочной ткани сопровождаются усиленным образованием интерстициальных коллагенов, в первую очередь молодого

коллагена III типа и в меньшей степени – зрелого коллагена I типа, а в базальных эпителиальных мембранах, видимо, вследствие гипоксии, усилен синтез коллагена IV типа.

2. В легочной ткани при ХСН выявлен выраженный дефицит макрофагальной популяции, по-видимому, обусловленный нарушением кровообращения, и плазмобластов-продуцентов IgA на фоне относительной недостаточности В-лимфоидного компонента и активации Т-клеточной популяции, внутри которой отмечается нарастание супрессорной функции.

3. В легочной ткани при ХСН усиливается дефицит ИЛ-1, по – видимому, связанный с уменьшением макрофагальной популяции, и увеличивается содержание ИЛ-6 – продуцирующих клеток, что, видимо обусловлено активацией Т-клеточной популяции.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Барна О.М. Маркеры запалення в стратифікації ризику серцево-судинних захворювань // Ліки України.-2007.-№ 115-116.-С. 6-11.
2. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление.- М.: Медицина, 1991.-272 с.
3. Tracy R.P. Inflammation in cardiovascular diseases // Circulation.- 1998.-V.97.-P. 2000-2002.
4. Насонов Е.А., Самаонов М.Ю., Беленков Ю.Н. Иммунопатология застойной сердечной недостаточности: роль цитокинов // Кардиология.- 1999.- № 3.- С. 66-73.
5. Rauchhaus M., Doehner W., Francis D.P. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure // Circulation.- 2000.-V.102.-P. 3060-3067.
6. Danesh J., Whincup P., Walker M. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated metaanalyses // Brit. Med. J.-2000.-V.321.-P.199-204.
7. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия.-М.: Медицина, 1995.-224 с.
8. Hein W.R. Organization of mucosal lymphoid tissue // Curr. Top. Microbiol. Immunol. -1999.-V. 236. – P.1-15.
9. Tscherning T., Pabst R. Bronchus associated lymphoid tissue (BALT) is not present in the normal adult lung but in different diseases // Pathobiology. - 2000.-V. 68.- P. 1-8.
10. Moyron-Quiroz J.E., Rangel-Moreno J., Kusser K. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity // Nat. Med.-2004. - V. 10.- P.927-934.
11. Plesch B.E., Gamelkoorn G.J., van de Ende M. Specific antibody – forming cell in bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) and lung of the rat after intratracheal challenge with horseradish // J. Virchows Archiv B – cells pathology.-1985.-V. 49.- P.269-276.

Надійшла 12.02.2009 р.

Рецензент: доц. А.І.Чистолінова