

# Цитологические особенности респираторных отделов легких при хроническом воспалении

Г.Г.Кругликов, Л.М.Лихачева, В.Б.Суслов, Н.Б.Странжа, А.П.Эттингер

*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, Москва (директор — проф. А.П.Эттингер)*

При хроническом воспалении в легких (хроническая обструктивная болезнь легких, туберкулез, пневмоконииозы) методом электронной микроскопии выявлены структурно-функциональные особенности в клетках гранулем (лейкоцитах, макрофагах, плазматических и тучных), выполняющих защитные функции, а также в стационарных, долгоживущих гладких миоцитах, в эндотелии оболочек бронхиол, кровеносных сосудов и в нервных окончаниях. Воспалительный процесс охватывает все ткани респираторных отделов.

*Ключевые слова: воспаление, ацинус, электронная микроскопия*

## Cytologic Features of Respiratory Portions of the Lungs in Chronic Inflammation

G.G.Kruglikov, L.M.Likhatcheva, V.B.Suslov, N.B.Stranzha, A.P.Oettinger

*Pirogov Russian National Research Medical University, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Moscow (Director — Prof. A.P.Oettinger)*

In chronic inflammation in the lungs (chronic obstructive pulmonary disease, tuberculosis, pneumoconiosis) there were revealed by the method of electron microscopy structural and functional features in granuloma cells (leukocytes, macrophages, plasmatic and corpulent cells) performing the protective function, as well as in stationary, long-lived smooth myocytes, in endothelial membranes of the bronchial tubes, blood vessels and nerve endings. The inflammatory process covers all the departments of respiratory portions.

*Key words: inflammation, acinus, electron microscopy*

**Б**лезни органов дыхания (ХОБЛ, астма, туберкулез, пневмоконииозы и др.) в настоящее время вышли на первое место по количеству заболеваний в мире, в том числе и в России. В последующие годы прогнозируется их дальнейшее распространение. Рост числа заболеваний органов дыхания связан с непрерывным развитием научно-технического процесса и выбросом в атмосферу вредных веществ, повышением устойчивости микробов к лекарственным препаратам, а также с увеличением случаев природных аномалий. В качестве примеров можно отметить постоянные выбросы вулканов, лесные пожары, пыльные бури, радиоактивные выбросы АЭС, выхлопные газы транспорта, добычу сланцевого газа, курение табака и наркотических средств [1].

В отдельных регионах загрязнение воздушной среды аэрозолями достигло такого уровня, что потребовало выделения в пульмонологии нового научного направления — экологической пульмонологии [2]. В состав аэрозолей входят микрочастицы, измеряемые в микрометрах, и наночастицы, составляющие тысячные доли микрометра. Число подобных частиц велико и постоянно растет, многие из них обладают сильным цитотоксическим действием.

Широкое распространение и рост числа заболеваний легких от воздействия промышленных пылевых частиц (аэрозолей) также связаны с появлением новых раздражающих агентов с неясным механизмом патогенеза, особенно при массивном действии наночастиц, и с отсутствием профилактики и лечения подобных болезней. Следует отметить чрезвычайно высокую чувствительность органов дыхания к действию повреждающих факторов, например, токсическое воздействие вдыхаемого фтора в 10 раз сильнее, чем введение такой же дозы фтора в растворенном виде в пищеварительный тракт. Связано это, по-видимому, с отсутствием специального органа детоксикации, такого как печень в пищеварительной системе [2].

Космические исследования выявили наличие пылевых частиц и вне Земли, на поверхности Луны и Марса. Лунная

### Для корреспонденции:

Кругликов Герман Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: oett@rsmu.ru

Статья поступила 21.04.2014, принята к печати 17.09.2014

пыль, оседая на механизмах космических аппаратов, нарушала их работу, а та, что попадала внутрь лунного модуля космического корабля «Аполлон», раздражала органы дыхания и глаза астронавтов. Раздражающий эффект лунной пыли также ощутили ученые, изучавшие ее в земных условиях. Разносторонние исследования эффектов лунного грунта на тканевом и органном уровне продолжают, в том числе и на моделях пневмокониозов, развивающихся как хроническое воспаление [3].

Изучение воспалительных реакций при ХОБЛ и туберкулезе, наряду с экспериментальными данными развития пневмокониозов, способствует лучшему пониманию патологических процессов, особенно в динамике развития и взаимосвязи фаз воспаления, и участия в них всех тканей организма [4].

Задачей данного исследования было изучение особенностей фагоцитоза, иммунных механизмов защиты, секреции цитокинов клетками очагов воспалительных процессов на экспериментальном и клиническом материале, что необходимо для уточнения патогенеза, проведения профилактики и лечения воспалительных процессов различной этиологии в легких.

### Материалы и методы

Материал для исследования хронической обструктивной болезни легких получен с помощью чрезбронхиальной биопсии у 7 больных среднего возраста, не курящих и не имеющих профессионального контакта с производственными минеральными пылями и токсическими веществами. Хроническое воспаление изучали также в туберкулезных гранулемах на операционном материале от 8 больных фиброзно-кавернозной формой туберкулеза.

Экспериментальным воспалением служили развивающиеся пневмокониозы, которые моделировали у белых крыс. Животным интратрахеальным способом вводили в легкие пылевые частицы в дозе 50 мг/мл физраствора. Использовали пылевые образцы кварца, каменного угля, цеолитов, лунного грунта, доставленного на Землю советскими автоматическими станциями «Луна-16» и «Луна-20». Воспалительную реакцию в легких изучали через 1–2, 5, 7, 14 сут; 1, 3, 5 мес от начала эксперимента в группах от 16 до 40 животных.

У животных также исследовали региональные лимфатические узлы (трахеобронхиальные), в которые макрофаги и лимфа по лимфатическим сосудам транспортируют фагоцитированный материал и его депонируют.

Материал изучали методом световой микроскопии после окраски срезов гематоксилином и эозином для обзорного анализа и пикрофуксином для выявления коллагеновых волокон, при увеличении 300. Использовали полутонкие срезы и отпечатки легких и лимфатических узлов для цитологического исследования и оценки фагоцитарной активности макрофагов.

Внутриклеточные процессы в легких и лимфатических узлах изучали методом электронной микроскопии на микроскопе HU-12 (Hitachi, Япония). Микрокусочки легочной ткани фиксировали 2,5% раствором глутаральдегида и дофиксировали 1% раствором четырехоксида осмия. Ма-

териал заливали в эпоксидную смолу «Аралдит». Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме LKB-3 (Швеция). Исследовали при увеличении 4000–12 000.

### Результаты исследования и их обсуждение

При развитии ХОБЛ защитные реакции в дистальных отделах мелких бронхов и респираторных отделах проявляются в виде повышенной функциональной активности клеток. В реснитчатом эпителии бронхов и бокаловидных клетках усиливается секреция слизи в резко гипертрофированном аппарате комплекса Гольджи (рис. 1, а). Дифференцировка базальных клеток меняется в сторону увеличения числа бокаловидных клеток, которые заменяют реснитчатые и доминируют в эпителиальной выстилке, вырабатывая огромную массу слизи.

При активации заболевания часть однослойного эпителия дифференцируется в многослойный плоский (явление метаплазии). Небольшие участки поверхностных клеток десквамируют в просвет бронхов. Многослойный эпителий повышает защиту от проникновения микробов, но снижает функционирование мукоцилиарного аппарата по эвакуации слизи, клеточного детрита, пылевых частиц из воздухоносных отделов, что приводит к застойным процессам и развитию микрофлоры.

В слизистой оболочке бронхов и альвеолах развивается воспалительная реакция с интенсивной экссудацией плазмы, лейкоцитов из капилляров в интерстициальную ткань и в просветы бронхов и альвеол (рис. 1, б). В отечной ткани возникают колонии пневмококков, размножающиеся пневмоцисты, что свидетельствует о снижении иммунной защиты. В очаге воспаления в большом количестве выявляются лимфоциты, эозинофилы, макрофаги, плазматические клетки и нейтрофилы с лизированными пневмококками в цитоплазме. Многочисленные эозинофилы секретируют цитокины по мерокриновому типу, выделяя их из матрикса и кристаллоида гранул в межклеточную среду. При хроническом воспалении в гранулах эозинофилов преобладает постоянная мерокриновая секреция литических ферментов сквозь плазмолемму, в отличие от острого воспаления, когда наблюдается выброс гранул из клеток с последующим лизисом в очаге воспаления.

Реактивность лимфоцитов направлена в сторону бласттрансформации в клетки плазматического ряда, синтезирующие и секретирующие антитела. При этом у них возрастает масса цитоплазмы, количество митохондрий, полирибосом, выявляются небольшие каналцы с гранулярной эндоплазматической сетью и клеточный центр в виде двух центриолей. Дифференцированные зрелые плазматические клетки имеют хорошо развитый аппарат синтеза антител. Плазмциты расположены небольшими группами по периферии очага воспаления вблизи микрососудов. Макрофаги фагоцитируют старые и патологически измененные эритроциты, клеточный детрит, микробы, разрушаются и выделяют факторы роста для фибробластов.

Тучные клетки постоянно секретируют в межклеточную среду медиаторы воспаления (гистамин и гепарин), вместе с цитокинами лейкоцитов, макрофагов и плазмцитов под-

держивают длительно текущее хроническое воспаление. Особенности секреции биогенных аминов из гранул тучных клеток видны при электронной микроскопии, при светооптическом исследовании они не регистрируются. В гранулах снижается электронная плотность, они уменьшаются в размерах, вокруг них скапливается отечная жидкость, они как бы тают, и число гранул падает. В завершении процесса происходит деструкция цитоплазмы и ядра.

Гистамин из гранул тучных клеток стимулирует высокую постоянную проницаемость капиллярной стенки усилением пиноцитоза и расширением эндотелиальных контактов, что вызывает отек азрогематического барьера и альвеолярных полостей.

В слизистой оболочке бронхов выявляются фиброзирование и утолщение базальной мембраны эпителиальной выстилки. Среди альвеол встречаются участки эмфиземы, в ряде альвеол полости заполнены трансудатом с фибриновыми волокнами со специфической поперечной исчерченностью, что служит объективным критерием замещения сурфактантного комплекса плазмой с высоким содержанием белков и ухудшением газообменной функции. Отечная жидкость поступает и в гладкие миоциты, пропитывает миофиламенты, вызывает вакуолизацию митохондрий. В нервных окончаниях, иннервирующих респираторные отделы, также выявляется отечная жидкость в миелиновых волокнах (рис. 1, в, г).

При ХОБЛ в просветах дистальных отделов бронхов содержится большое количество слизи, эритроцитов, фибриновых волокон, пласты десквамированного многослойного эпителия, лейкоцитов (особенно эозинофилов), макрофагов, клеточного детрита, микрофлоры, гранул эозинофилов. Все структуры, заполняющие полости бронхов, служат основой развития обструктивных процессов в легких, затрудняют поступление воздуха в ацинусы, нарушают газообмен, способствуют развитию гипоксии [5].

Для туберкулеза в период обострения заболевания характерно формирование в легочной ткани гранулемы с казеозным распадом в центре. В гранулеме сконцентрированы лимфоциты, эозинофилы, макрофаги, эпителиоидные и многоядерные клетки. На периферии гранулемы отмечают скопления крупных плазматических клеток с обилием канальцев гранулярной эндоплазматической сети, митохондрий в цитоплазме, признаками синтеза и секреции антител. Источником для плазматических клеток являются скопления лимфоцитов в стадии бластотрансформации и дифференцировки в плазмциты. В эозинофильных лейкоцитах происходит внутриклеточный лизис гранул (матрикса и кристаллоида) и выход цитокинов в межклеточную среду.

Процесс секреции антител и цитокинов, обладающих мощным литическим свойством, наряду с фагоцитозом макрофагами микобактерий и наличием частично переваренных палочек Коха в межклеточной среде, свидетельствует об интенсивной местной антигенной защите. Макрофаги фагоцитируют микобактерии, однако процесс лизиса остается незавершенным из-за химических особенностей поверхностной оболочки микробов. Фагоциты становятся антигеноносителями и тем самым поддерживают нестерильный иммунитет. Несмотря на фагоцитоз

микобактерий, ликвидировать возбудителя не удается [6, 7]. Происходит разрушение макрофагов, и продукты распада (факторы роста) стимулируют активацию фибробластов и синтез коллагеновых волокон, постепенно гранулема инкапсулируется для локализации патологического процесса.

При обострении туберкулезного процесса тучные клетки, лежащие вблизи гранулем, секретировав гистамин, поддерживают экссудативную фазу воспаления и отечность структур респираторных отделов.

Пневмокониозы (пылевые болезни легких) развиваются как банальные воспалительные реакции (асептическое воспаление). Используемые в эксперименте образцы минеральных частиц (угля, кварца, цеолитов, асбеста, лунного грунта) обладают различной цитотоксичностью, и это определяет эффективность фагоцитоза, элиминации и выраженность завершающего этапа воспаления — степени фиброирования. Введение пылевых частиц в легочную ткань вызывает интенсивную экссудацию плазмы и лейкоцитов из кровеносных сосудов в интерстициальную соединительную ткань. Происходит транспортировка плазмы крови многочисленными пиноцитозными микропузырьками, а также через расширенные межэндотелиальные контакты. Вначале из сосудов выходит плазма, обедненная белками, и вызывает отек азрогематического барьера, альвеолярных полостей, а внутри просветов микрососудов концентрируется плазма с высоким содержанием белков, характеризующихся большой электронной плотностью. Макрофаги интенсивно фагоцитируют частицы, введенные в легкие. Процесс элиминации пылевых частиц осложнен тем, что при моделировании пневмокониозов учитывают весовое количество частиц (50 мг) и размеры (5 мкм и менее). Однако исследования в сканирующем электронном микроскопе выявили на их поверхности множество сателлитов различной дисперсности, в том числе нанометрового диапазона (рис. 2, а).

Наличие наночастиц бесспорно, они постоянно присутствуют в аэрозолях и поступают в легкие с вдыхаемым воздухом. Известно, что чем больше суммарная поверхность частиц, тем сильнее выражено токсическое воздействие, но учитывать количество наночастиц, поступающих в ткань вместе с исследуемыми, в настоящее время не представляется возможным [8]. Несмотря на интенсивный фагоцитоз и элиминацию микрочастиц макрофагами, значительная часть их депонируется в легких и региональных лимфатических узлах. В лимфатических узлах происходит депонирование самых мелких и наноразмерных частиц (рис. 2, б, в).

Макрофаги, имеющие короткий жизненный цикл, быстро погибают от цитотоксического действия фагоцитированных частиц, так как безвредных минералов не бывает. При захвате микробов и инородных частиц фагоциты, защищаясь от них, генерируют активные формы кислорода, которые не действуют на минералы, но токсичны для клеток (рис. 2, г). В макрофагах поврежденные митохондрии не способны обеспечивать энергией фагоцитарный процесс, а деструкция фаголизосом из-за отсутствия гидролитических ферментов для переваривания неорганических частиц вызывает аутолиз клеток.

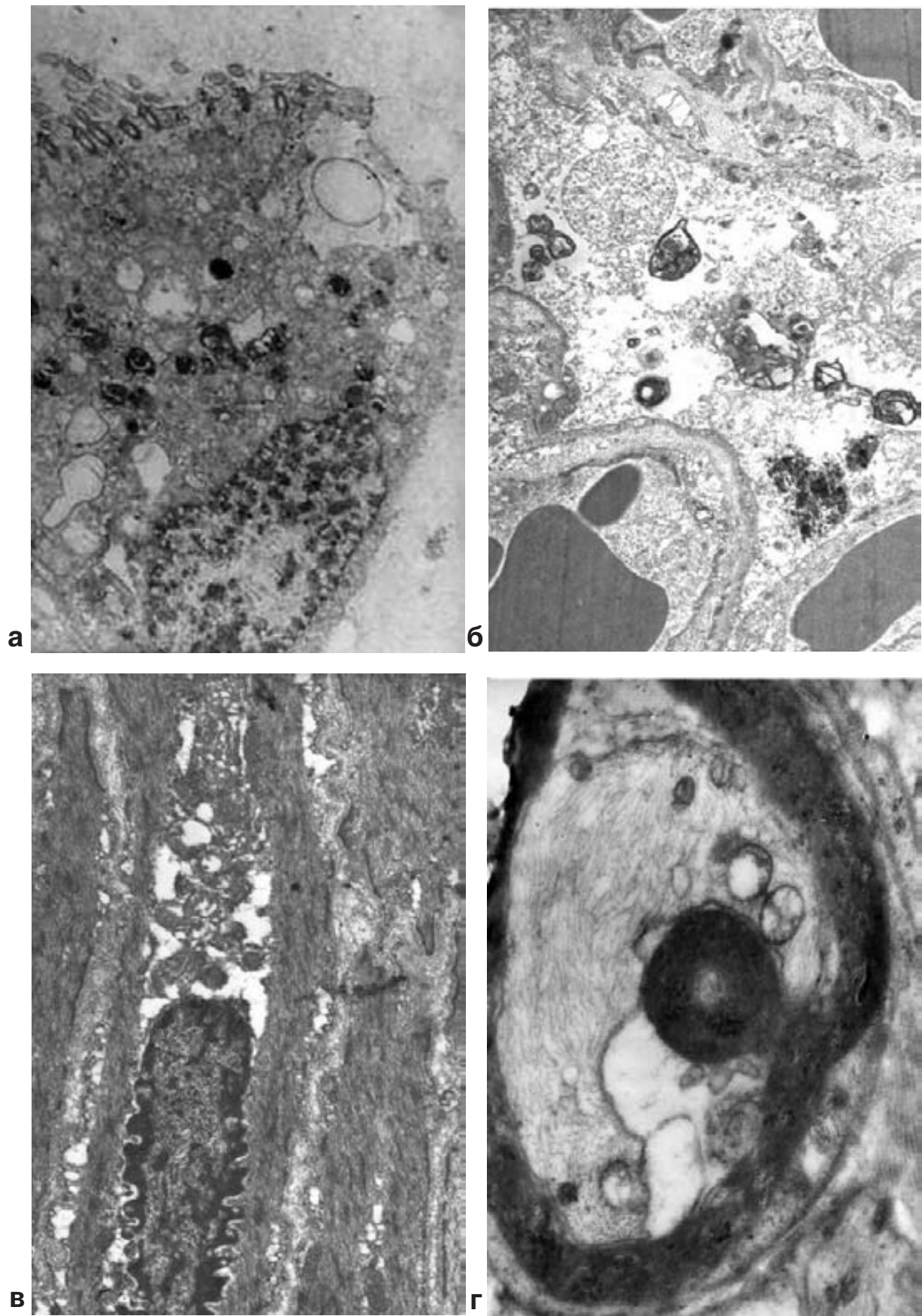


Рис. 1. Клетки респираторного отдела при воспалении. а — реснитчатая клетка, десквамация ресничек, интенсивный синтез компонентов слизи; б — отек аэрогематического барьера, частичная деструкция цитоплазмы эндотелиальной клетки, отек альвеолы и клеточный детрит; в — гладкомышечная клетка, перинуклеарный отек, отек митохондрий, деструкция крист; г — нервные окончания, вакуолизация аксоплазмы.

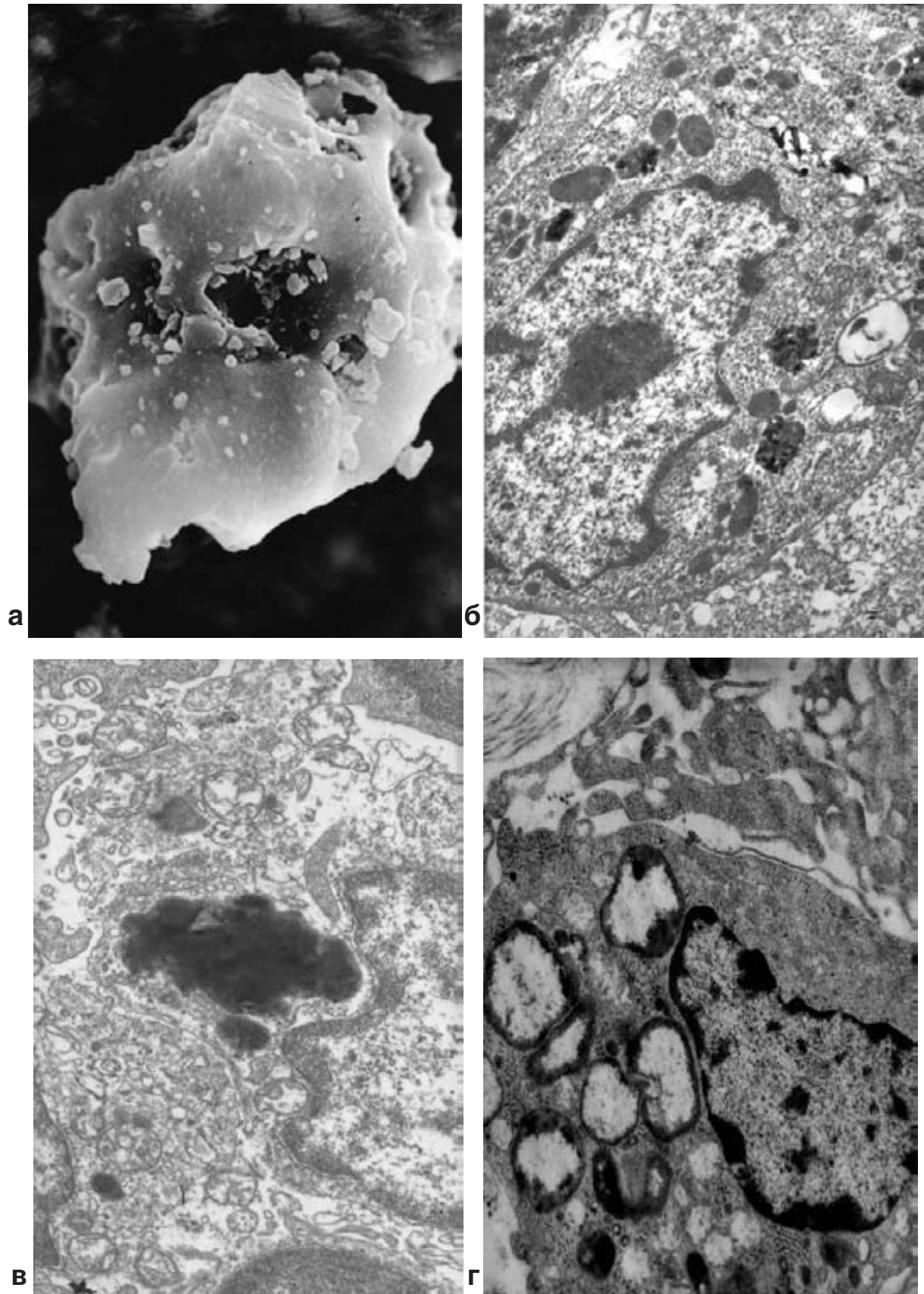


Рис. 2. **Макрофаги, особенности фагоцитоза.** а — частица лунного грунта, поверхность которой покрыта микросателлитами, в том числе нанометрового диапазона (сканирующая электронная микроскопия, ув. 5000); б — фагоцитоз частиц асбеста, локализация в фаголизосомах, отек и деструкция крист в митохондриях, гипертрофия комплекса Гольджи; в — макрофаг лимфатического узла, фаголизосома, содержащая наночастицу лунного грунта (треугольной формы), отек митохондрий, деструкция крист; г — макрофаг, фагоцитоз микобактерий, невыраженная лизосомальная реакция, деструкция и вакуолизация митохондрий.

Фагоцитирующие макрофаги разрушаются, новые клоны макрофагов вновь продолжают фагоцитарный процесс, который остается незавершенным. При деструкции большого числа макрофагов и лейкоцитов изменяются свойства высокомолекулярных белков и нуклеиновых кислот, вызывающих местную аутоиммунную реакцию [9]. В результате бласттрансформации лимфоцитов образуются небольшие скопления мелких плазматических клеток со слабым развитием аппарата синтеза и секреции белков (антител). Аутоиммунная реакция заканчивается к началу фиброза. Воспаление принимает хроническую форму, когда повреждающий агент еще не устранен и продолжается экссудация плазмы и лейкоцитов в межклеточную среду, а венозный и лимфатический отток снижен, гидростатическое давление в ткани возрастает, развивается гипоксия, трансудат пропитывает структуры газообменного отдела и вызывает внутриклеточный отек.

Разрушающиеся макрофаги выделяют цитокины и факторы роста, активирующие фибробласты и синтез коллагеновых волокон. Интенсивность фиброза зависит от цитотоксичности частиц, фагоцитарной активности макрофагов и способности выведения инородных тел из легких [10].

### Заключение

Проведенные исследования воспалительных реакций дали возможность оценить участие клеток всех четырех тканей организма.

При ХОБЛ клетки эпителия (бокаловидные и реснитчатые) усиливают секрецию слизи. В целях повышения продукции слизи потомки базальных клеток (камбиальных) дифференцируются в бокаловидные, гипертрофированные формы которых секретируют большие массы слизи.

Другой формой повышения защитной функции служит дифференцировка однослойного эпителия бронхов в многослойный (процесс метаплазии), который эффективнее препятствует инвазии микробов в слизистую оболочку, но нарушает процесс эвакуации содержимого полости бронхов мукоцилиарным аппаратом.

При активации туберкулезного процесса происходит формирование воспалительных гранулем, в которых макрофаги фагоцитируют микобактерии. Однако химические особенности поверхностной оболочки бактерий препятствуют лизису, процесс переваривания остается незавершенным, формируется симбиоз с клеткой, и фагоциты становятся переносчиками заболевания. В гранулемах плазматические клетки синтезируют антитела, происходит развитие интенсивной иммунной реакции и формирование нестерильного иммунитета.

В развитии пневмокозиозов ведущая роль принадлежит макрофагам. Фагоцитирующие макрофаги разрушаются, так как отсутствуют ферменты для переваривания минеральных частиц. В результате незавершенного фагоцитоза и деструкции погибающие макрофаги выделяют факторы роста фибробластов и синтеза коллагеновых волокон.

Воспалительный процесс захватывает бронхи и сосуды, в гладкомышечных клетках которых возникает оте-

чность цитоплазмы, миофиламентов, части митохондрий. В нервных окончаниях, иннервирующих легкие, в миелиновых волокнах (аксонах) выявляется отек осевого цилиндра и митохондрий.

Наличие патологии в стационарных длительно живущих клетках (гладкие миоциты, нервные волокна) указывает на генерализацию воспаления и участие в нем клеток всех тканей легких.

### Литература

1. Васильева О.С., Гусаков А.А. Влияние задымления атмосферного воздуха в период аномальной жары на показатели заболеваемости и смертности по причине острых и хронических болезней дыхательной системы // Пульмонология. 2011. №4. С.38–43.
2. Величковский Б.Т. Экологическая пульмонология. Екатеринбург, 2003. 139 с.
3. Кустов В.В., Белкин В.И., Кругликов Г.Г. Биологические эффекты лунного грунта (Проблемы космической биологии). Л.: Наука, 1989. Т.61. 103 с.
4. Коган Е.А., Кругликов Г.Г., Пауков В.С. и др. Патология органов дыхания. Атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 272 с.
5. Кругликов Г.Г., Величковский Б.Т., Чучалин А.Г. Морфологическая характеристика хронического обструктивного бронхита // Пульмонология. 2003. №3. С.16–19.
6. Ernst J.D. Macrophage receptors for *Mycobacterium tuberculosis* // Infect Immun. 1998. V.66. P.1277–1281.
7. Tan B.H., Meinken C., Bastian M. et al. Macrophages acquire neutrophil granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens // J Immunol. 2006. V.177 (3). P.1864–1871.
8. Величковский Б.Т., Кругликов Г.Г. Дискуссионные вопросы о влиянии частиц нанометрового диапазона на органы дыхания // Пульмонология. 2011. №3. С.5–8.
9. Кругликов Г.Г., Сулов В.Б., Эттингер А.П. Субклеточные механизмы развития воспалительных реакций // Вестн. РГМУ. 2011. №2. С.58–61.
10. Кругликов Г.Г., Пекарский М.И. Атлас функциональной морфологии клеток крови и соединительной ткани. М.: Медицина, 2005. 176 с.

### Информация об авторах:

Сулов Владимир Борисович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: suslov\_vb@mail.ru

Лихачева Лидия Михайловна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: likhahyova37@mail.ru

Странжа Наталья Борисовна, младший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: stranza@mail.ru

Эттингер Александр Павлович, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-1401  
E-mail: oett@rsmu.ru