

Justyna Kościuch¹, Tadeusz Przybyłowski¹, Katarzyna Górską¹, Rafał Krenke¹, Wojciech Baran², Marek Kujawa³, Katarzyna Hildebrand¹, Ryszarda Chazan¹

¹Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. n. med. R. Chazan

²Katedra i Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. n. med. J. Przybyłowski

³Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Centrum Biostruktury Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. n. med. J. Malejczyk

Zależność pomiędzy grubością błony podstawnej oskrzeli i wybranymi parametrami czynności układu oddechowego u chorych na astmę

Relationship between airway basement membrane thickness and lung function tests in patients with asthma

Abstract

Introduction: Airway remodeling is a characteristic feature of asthma. It is believed that airway remodeling affects lung function and bronchial hyper-responsiveness. Therefore, the relationship between remodeling and lung function is still a matter of extensive research. However, the results of many studies are inconsistent. The aim of the study was to assess the relationship between lung function parameters and basement membrane (BM) thickness in patients with asthma.

Material and methods: Twenty asthma patients were chosen for the study (ten male, ten female, mean age 37 ± 15 yrs). Ten were newly diagnosed, steroid-naive patients and the other ten were patients known to have asthma who had not been treated with steroids for at least three months. The study group was selected based on the results of: clinical assessment, allergic skin-prick tests, lung function testing and bronchial challenge with methacholine. Nine (45%) patients had chronic mild, nine (45%) had moderate and two (10%) had intermittent asthma. Mean FEV₁% pred. was 83 ± 18 , mean FEV₁%VC 69 ± 9 , mean FVC% pred. 101 ± 14 . All patients underwent research fiberoptic bronchoscopy with BAL and bronchial mucosal biopsies. Light-microscopic measurements of BM thickness were performed in hematoxylin-eosin stained slides of bronchial wall specimens with semi-automatic software analysis MultiScan Base 08.98.

Results: Mean BM thickness was $12.8 \pm 2.8 \mu\text{m}$ (range: 8.5–20.7 μm). No significant correlations between BM thickness and FEV₁% pred., FEV₁%VC, FVC% pred., RV% pred., TLC% pred., Raw (pre- and post-bronchodilator) and PC₂₀ were observed.

Conclusions: In our group of asthma patients mean BM was significantly thickened. No relationship between BM thickness and lung function tests, including hyper-responsiveness, was found.

Key words: basement membrane, airway remodeling, lung function tests, hyper-responsiveness, asthma

Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 256–263

Streszczenie

Wstęp: W przebiegu astmy dochodzi do remodelingu oskrzeli, na który składa się między innymi pogrubienie błony podstawnej. Istnieją opinie, że przebudowa może wpływać na czynność układu oddechowego, w tym na nadreaktywność oskrzeli. Wyniki dotychczasowych badań nie są jednoznaczne. Badanie miało na celu wyjaśnienie, czy istnieje zależność pomiędzy grubością błony podstawnej i wybranymi wynikami badań czynnościowych, w tym testu nadreaktywności oskrzeli, u chorych na astmę.

Adres do korespondencji: dr n. med. Justyna Kościuch, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1a, 02–097 Warszawa, tel./faks: (022) 599 27 51/(022) 599 15 60, e-mail: j_kosciuch@o2.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 18.09.2008 r.
Copyright © 2009 Via Medica
ISSN 0867–7077

Materiał i metody: Do badania zakwalifikowano 20 chorych na astmę (M/K 10/10, średni wiek 37 ± 15 lat), w tym 10 chorych ze świeżo rozpoznaną astmą i 10 chorych z dawno postawionym rozpoznaniem, którzy z różnych przyczyn nie przyjmowali glikokortykosteroidów w okresie 3 miesięcy poprzedzających badanie. U wszystkich chorych przeprowadzono wywiad i badanie fizykalne, RTG klatki piersiowej, badanie spirometryczne z próbą rozkurczową oraz pletyzmografię, test nadreaktywności oskrzeli z metacholiną, punktowe testy skórne i oznaczenie całkowitego IgE w surowicy. U 9 chorych (45%) stwierdzono astmę przewlekłą lekką, u 9 (45%) umiarkowaną, a u 2 (10%) astmę epizodyczną. Średnia wartość natężonej pierwszosekundowej objętości wydechowej wyniosła $83 \pm 18\%$ w. n., natomiast średni wskaźnik $FEV_1\%VC$ — 69 ± 9 . U wszystkich chorych wykonywano bronchofiberoskopię z pobraniem wycinków z oskrzeli płatowych i/lub segmentowych. Pomiarów grubości błony podstawnej dokonywało dwóch badających wspólnie, na poprzecznych przekrojach skrawków barwionych hematoksyliną i eozyną oglądanych pod mikroskopem świetlnym, przy użyciu programu komputerowego MultiScan Base 08.98.

Wyniki: Grubość błony podstawnej wyniosła 8,5–20,7 μm (średnia $12,8 \pm 2,8 \mu\text{m}$). Nie stwierdzono istotnych statystycznie związków pomiędzy grubością błony podstawnej a wartościami $FEV_1\%$ w. n., TLC % w. n., RV % w. n., Raw, PC₂₀.

Wnioski: W badanej grupie chorych na astmę stwierdzono pogrubienie błony podstawnej. Nie stwierdzono natomiast związku pomiędzy grubością błony podstawnej a ocenianymi wykładnikami czynności układu oddechowego.

Słowa kluczowe: błona podstawna, remodeling oskrzeli, badania czynnościowe płuc, nadreaktywność oskrzeli, astma
Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 256–263

Wstęp

Pogrubienie podnabłonkowej błony podstawnej oskrzeli u chorych zmarłych z powodu astmy obserwowano już na początku XX wieku [1], a prace publikowane w późniejszych latach potwierdziły wcześniejsze doniesienia [2, 3]. Obecnie wiadomo, że włóknienie podnabłonkowe, charakterystyczne dla astmy, związane jest z odkładaniem się tenascyny, fibronektyny, proteoglikanów i kolagenu typu I, III i V w blaszce gęstej błony podstawnej [4–7]. Roche i wsp. jako jedni z pierwszych opisali charakter włóknienia podnabłonkowego w ścianie dróg oddechowych chorych na astmę [4]. Od tego czasu przebudowa oskrzeli w przebiegu astmy jest przedmiotem wielu intensywnych analiz. Obecnie dzięki badaniom bronchoskopowym (płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego, biopsje wewnątrzoskrzelowe) i tomografii komputerowej wysokiej rozdzielczości, a także dzięki rozwojowi nowoczesnych technik molekularnych i immunohistochemicznych możemy coraz precyzyjniej oceniać proces zapalny i przejawy remodelingu w drogach oddechowych [8–10].

Zmiany strukturalne oskrzeli, do których rozwoju dochodzi w przebiegu astmy oskrzelowej, to poza pogrubieniem błony podstawnej — zluszczenie nabłonka, przerost komórek kubkowych i gruczołów śluzowych, wzmożona proliferacja naczyń, hiperplazja i hipertrofia mięśni gładkich [11–13]. Konsekwencją tych zmian jest pogrubienie całej ściany oskrzela [10, 14]. Istnieją opinie, że zmiany strukturalne oskrzeli mogą być przyczyną nadreaktywności oskrzeli, przyspieszonego pogarszania się funkcji płuc, utrwalonej obturacji obserwowanej u pewnego odsetka chorych na astmę, cięższego prze-

biegu choroby czy braku odpowiedzi na leczenie przeciwzapalne glikokortykosteroidami [15].

Obecnie nie dysponujemy dostateczną ilością informacji pozwalających na jednoznaczne określenie klinicznych konsekwencji remodelingu dróg oddechowych. Wydaje się, że dokładna analiza zależności pomiędzy nasileniem zmian strukturalnych w oskrzelach a parametrami czynnościowymi układu oddechowego mogłaby przyczynić się do poszerzenia wiedzy na ten temat. Wyniki prac, w których badano związek pomiędzy grubością błony podstawnej a czynnością układu oddechowego, w tym nadreaktywnością oskrzeli, są niejednoznaczne, często rozbieżne [4, 16].

Badanie miało na celu wyjaśnienie, czy istnieje zależność pomiędzy grubością błony podstawnej a wybranymi parametrami badania spirometrycznego, pletyzmograficznego i nadreaktywnością oskrzeli u chorych na astmę.

Materiał i metody

Badaną grupę stanowiło 20 chorych na astmę: 10 mężczyzn i 10 kobiet w wieku 18–76 lat (średni wiek 37 ± 15 lat). Najczęstszym i obecnym u wszystkich chorych objawem choroby były epizody duszności ze świszczącym oddechem. Czas trwania objawów wyniósł średnio $14,5 \pm 13$ lat. Rozpoznanie astmy i stopnia jej ciężkości dokonywano na podstawie wytycznych Światowej Strategii Rozpoznawania, Leczenia i Prewencji Astmy [17]. Astmę sporadyczną (epizodyczną) rozpoznawano, gdy objawy występowały rzadziej niż raz w tygodniu, objawy nocne obserwowano nie częściej niż 2 razy w miesiącu, a wartość $FEV_1 \geq 80\%$ w.n. Astmę przewlekłą lekką rozpoznawano u tych cho-

rych, u których objawy występowały częściej niż raz w tygodniu, ale rzadziej niż raz dziennie, przy czym objawy nocne występowały częściej niż 2 razy w miesiącu, a wskaźnik $FEV_1 \geq 80\%$ w.n. Astmę przewlekłą umiarkowaną rozpoznawano wówczas, gdy dolegliwości pojawiały się codziennie, objawy nocne częściej niż raz w tygodniu, a FEV_1 wynosił 60–80% w.n.

Za kryteria włączenia do grupy badanej przyjęto: 1. stopień ciężkości choroby odpowiadający astmie epizodycznej, przewlekłej lekkiej lub umiarkowanej; 2. brak stosowania glikokortykosteroidów w jakiegokolwiek postaci, w okresie co najmniej trzech miesięcy poprzedzających badanie.

U 10 chorych rozpoznanie astmy ustalono w okresie bezpośrednio poprzedzającym badanie (astma świeżo rozpoznana — grupa AN), u pozostałych okres pomiędzy rozpoznaniem a badaniami morfologicznymi wahał się od 2 do 24 lat (astma dawno rozpoznana — grupa AD) (średnio $12,4 \pm 7,9$ roku). U 12 (60%) chorych rozpoznano astmę atopową, a u 7 (35%) chorych stwierdzono przewlekły alergiczny nieżyt nosa. Wśród badanych 11 osób nigdy nie paliło papierosów, 6 paliło w przeszłości i przestało palić przynajmniej 2 lata przed badaniem (średnia 7 ± 7 paczkolet), a pozostałe 3 osoby nadal paliły (średnia 27 ± 21 paczkolet). W grupie AN wszystkie badania zostały wykonane przed rozpoczęciem leczenia glikokortykosteroidami. Żaden z chorych należących do grupy AD nie stosował leków przeciwzapalnych przez okres co najmniej 3 miesięcy poprzedzających włączenie do udziału w badaniu.

Każdy chory wyraził pisemną zgodę na udział w badaniu. Praca jest częścią projektu, który uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Warszawie (172/2003).

U każdego chorego przeprowadzono dokładny wywiad i badanie fizykalne, wykonano RTG klatki piersiowej, spirometrię z próbą rozkurczową zgodnie z wytycznymi *European Respiratory Society* (ERS) [18], test nadreaktywności oskrzeli z metacholiną zgodnie z zaleceniami *American Thoracic Society* (ATS) [19] oraz punktowe testy skórne z alergenami wziewnymi i ocenę stężenia całkowitego IgE w surowicy. Badanie spirometryczne z rejestracją krzywej przepływu–objętość oraz próbą odwracalności obturacji przeprowadzono za pomocą systemu Lung Test 1000 (MES, Polska), do rozpoznania dodatniej spirometrycznej próby rozkurczowej zastosowano kryteria opublikowane przez Polskie Towarzystwo Chorób Płuc [20]. Badanie pletyzmograficzne wykonywano przy użyciu zestawu do badań czynnościowych V max Series 229/V6200 (Sensor Medics Corporation, Stany Zjednoczone).

Tabela 1. Wyniki badań czynnościowych

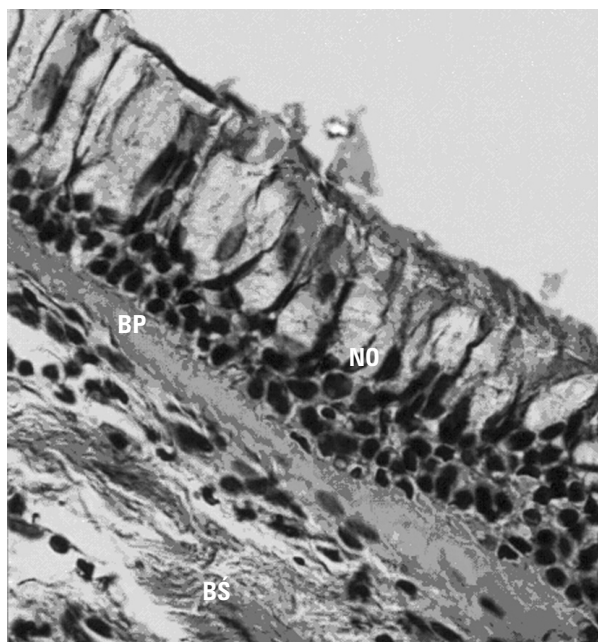
Table 1. Results of lung function tests

Parametry badań czynnościowych płuc <i>Lung function tests results</i>	Średnia \pm SD <i>Mean \pm SD</i>
$FEV_1\%$ VC	69 ± 9
FEV_1 % w.n./predicted	83 ± 18
FVC % w.n./predicted	101 ± 14
TLC % w.n./predicted	107 ± 12
RV % w.n./predicted	127 ± 44
RV/TLC	34 ± 13
Raw [cm H ₂ O/l/s]	$2,6 \pm 1,3$
Odwracalność obturacji [ml] <i>Obstruction reversibility [ml]</i>	358 ± 193
PC ₂₀ [mg/ml]	$2,5 \pm 3,1$

Na podstawie wywiadu oraz badań czynnościowych układu oddechowego u 9 osób (45%) rozpoznano astmę przewlekłą umiarkowaną, u 9 (45%) astmę przewlekłą lekką, u 2 (10%) — astmę epizodyczną. Średnia wartość natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej wyrażonej jako % wartości należnej (FEV_1 % w.n.) wyniosła $82,6 \pm 17,8$ %, pozostałe wyniki badania spirometrycznego, spirometrycznej próby rozkurczowej oraz niektórych parametrów badania pletyzmograficznego podano w tabeli 1.

W następnym etapie u każdego chorego wykonano bronchofiberoskopię zgodnie z schematem przedstawionym we wcześniejszej publikacji [21]. Badania wykonywano za pomocą bronchofiberoskopu Storz 11004 BC (Niemcy), w znieczuleniu miejscowym (2% lidokaina) i po wcześniejszej premedykacji (0,5 mg atropiny i.m., 10 mg diazepam i.m., 400 μ g salbutamolu wziewnie). Podczas badania dokonywano makroskopowej oceny drzewa oskrzelowego oraz pobierano wycinki z oskrzeli płatowych i/lub segmentowych.

Wycinki błony śluzowej oskrzeli umieszczano w 4% roztworze formaldehydu, następnie zatapiano w parafinie, krojono w skrawki i, w kolejnym etapie, barwiono metodą klasyczną — hematoksyliną i eozyną. Tak przygotowane preparaty oceniano w mikroskopie świetlnym przy powiększeniu 400-krotnym. Przy użyciu programu komputerowego MultiScan Base 08.98 CSS Video Frame Grabber v. 5.10. (Computer Scanning Systems, Polska) dokonywano pomiarów grubości błony podstawnej we wszystkich dostępnych skrawkach, w których krawędź cięcia przebiegała prostopadle do powierzchni nabłonka i błony podstawnej, to znaczy w tych przekrojach, gdzie dokładnie moż-



Rycina 1. Fragment wycinka błony śluzowej pobranego od chorego na astmę przewlekłą umiarkowaną. Zaznaczono: BP — błonę podstawną siateczkową, NO — prawidłową warstwę nabłonkową oskrzela i BŚ — błonę śluzową właściwą. Mikroskop świetlny (powiększenie $\times 400$)

Figure 1. Mucosa specimen collected from a patient with moderate asthma. BP — reticular basement membrane, NO — normal epithelial bronchial layer, BŚ — mucosa propria. Light microscope (magnification $\times 400$)

na było ocenić komórki nabłonka wraz z rzęskami, błonę podstawną oraz warstwę podnabłonkową. Przykład przekroju, na którym dokonano pomiarów grubości błony podstawnej, przedstawia rycina 1. Oceniano średnio po 3 ± 1 wycinki od każdego chorego, dokonując średnio około 53 ± 16 pomiarów grubości błony podstawnej w odstępach co $20 \mu\text{m}$ wzdłuż błony podstawnej. W opracowaniu statystycznym za wartość odzwierciedlającą grubość błony podstawnej u danego chorego przyjęto wartość średnią ze wszystkich pomiarów według metody Sullivan i wsp. [22] dokonanych wspólnie przez dwóch badających.

Wartości liczbowe przedstawiono jako średnia \pm odchylenie standardowe. Do porównania grup AD i AN oraz chorych podzielonych ze względu na czas trwania choroby wykorzystano test U Manna-Whitneya, a do oceny różnic pomiędzy chorymi podzielonymi w zależności od stopnia ciężkości — test ANOVA rang Kruskala-Wallis. Istotność korelacji oceniano przy użyciu nieparametrycznego współczynnika korelacji rang Spearmana (r). Za istotną statystycznie uznano wartość $p < 0,05$. Jeśli wartość $p > 0,05$, oznaczano ją jako nieistotną statystycznie $p = \text{ns}$.

Wyniki

Średnia grubość błony podstawnej w badanej grupie wynosiła $12,8 \pm 2,8 \mu\text{m}$ (min. $8,5 \mu\text{m}$, maks. $20,7 \mu\text{m}$). Nie obserwowano związku grubości błony podstawnej z czasem trwania choroby oraz wiekiem chorych. Nie było również istotnej statystycznej zależności pomiędzy grubością błony podstawnej a stopniem ciężkości astmy (astma epizodyczna — $15,3 \pm 1,2 \mu\text{m}$, astma lekka — $11,8 \pm 2,2 \mu\text{m}$, astma umiarkowana — $13,2 \pm 3,3 \mu\text{m}$; $p = \text{ns}$). Nie znaleziono również różnic w grubości błony podstawnej pomiędzy grupą chorych, u których dolegliwości trwały ponad 5 lat, i w grupie z objawami trwającymi poniżej 5 lat (dla pierwszej grubość błony podstawnej wyniosła $13,2 \pm 3,1 \mu\text{m}$, dla drugiej $12,1 \pm 1,8 \mu\text{m}$; $p = \text{ns}$). Grubość błony podstawnej okazała się większa w grupie z astmą dawno rozpoznaną (grupa AD) w porównaniu z grupą, w której astmę rozpoznano bezpośrednio przed włączeniem do badania (grupa AN), a różnica nie była istotna statystycznie ($13,3 \pm 3,3 \text{ mm}$ vs. $12,25 \pm 1,9 \text{ mm}$; $p = \text{ns}$).

W grupie chorych na astmę atopową średnia GBP była porównywalna do średniej w grupie z astmą nieatopową (odpowiednio $12,6 \pm 2,0 \mu\text{m}$ i $13,0 \pm 3,6 \mu\text{m}$; $p = \text{ns}$). Wśród osób, u których stwierdzono przewlekły alergiczny nieżyt nosa, błona podstawna była nieco większa w porównaniu z chorymi bez nieżytu, ale różnica nie była statystycznie istotna ($13,6 \pm 1,0 \mu\text{m}$ vs. $12,4 \pm 3,0 \mu\text{m}$; $p = \text{ns}$).

Nie stwierdzono zależności pomiędzy grubością błony podstawnej oskrzeli a wartością wskaźników spirometrycznych natężonej objętości pierwszosekundowej $\text{FEV}_1\%$ w.n., natężonej pojemności życiowej $\text{FVC}\%$ w.n. oraz objętością zalegającą, całkowitą pojemnością płuc czy oporem dróg oddechowych zarówno przed podaniem, jak i po podaniu leku rozkurczającego oskrzela w grupie chorych na astmę. Nie obserwowano również zależności pomiędzy grubością błony podstawnej a reaktywnością oskrzeli wyrażoną jako wartość PC_{20} (*provocative concentration*).

Omówienie

Wraz z rozwojem wiedzy dotyczącej patogenezy i przejawów remodelingu rośnie także zainteresowanie potencjalnymi konsekwencjami klinicznymi przebudowy drzewa oskrzelowego. Niestety, wykazanie wyraźnego związku pomiędzy objawami klinicznymi czy wynikami badań czynnościowych układu oddechowego a zmianami strukturalnymi jest trudne. Główny problem stanowi fakt, że remodeling to proces złożony, na któ-

ry składa się wiele zmian, często niemożliwych do oceny przy użyciu dostępnych dziś technik.

Jedną z metod wykorzystywanych w ocenie remodelingu oskrzeli u chorych na astmę jest badanie bronchofiberoskopowe z pobraniem wycinków wewnątrzoskrzelowych, które po raz pierwszy w tej grupie chorych przeprowadzono przed ponad dwudziestu laty [23]. W badanej przez nas grupie chorych na astmę nie obserwowano powikłań bronchofiberoskopii. Należy podkreślić, że bronchofiberoskopię przeprowadzano z zachowaniem zasad ostrożności — bezpośrednio przed badaniem chorzy otrzymywali salbutamol w postaci wziewnej, a podczas zabiegu prowadzono tlenoterapię. Badanie było dobrze tolerowane, nie odnotowano istotnych zaburzeń ze strony układu oddechowego i układu krążenia [21]. Nasza obserwacja pokrywa się z wynikami poprzednich prac, w których donoszono, że badanie bronchofiberoskopowe wykonywane w celach poznawczych u chorych na astmę jest bezpieczne [24].

W naszym badaniu średnia grubość błony podstawnej w grupie chorych na astmę wyniosła $12,8 \pm 2,8 \mu\text{m}$. Te wartości grubości błony podstawnej są porównywalne do stwierdzanych przez innych autorów, choć wyniki wielu badań wskazują na możliwość występowania różnic w ocenie tego parametru. W dostępnym piśmiennictwie średnia grubość błony podstawnej u chorych na astmę miała wartość od $7,9 \mu\text{m}$ do $23 \mu\text{m}$ [4, 6, 25–28]. Rozbieżności pomiędzy badaniami mogą wynikać z różnic w metodzie pobrania bioptatów, typu użytych do biopsji kleszczyków, różnego stopnia kwalifikacji osoby wykonującej badanie [29], zastosowania różnych metod barwienia wycinków (hematoksylina i eozyna, błękit toluidyny), innych metod oceny błony podstawnej (mikroskop świetlny, mikroskop elektronowy), a także dokonywania pomiarów na różnych przekrojach błony śluzowej, w tym skośnych, co może znacznie zawyżać pomiar. Aby uniknąć błędów metodycznych, w obecnej pracy badania fiberoskopowe wykonywało dwóch doświadczonych bronchoskopistów i u wszystkich badanych użyto jednego rodzaju kleszczyków. Jednocześnie ściśle przestrzegano zasady, aby dokonywać pomiarów tylko na przekrojach poprzecznych, to znaczy na tych przekrojach, na których można było dokładnie ocenić nabłonek wielorzędowy, błonę podstawną oraz warstwę podnabłonkową (ryc. 1). Przyjęliśmy metodę opisaną przez Sullivana jako sprawdzoną i stosowaną przez innych badaczy [22], dlatego u każdego chorego wykonywano co najmniej po 40 pomiarów grubości błony podstawnej w odstępach co $20 \mu\text{m}$ wzdłuż błony podstawnej. Pomiarów grubości błony pod-

stawnej dokonywało dwóch oceniających jednocześnie, tak aby dodatkowo wykluczyć możliwość błędów.

Pogrubienie błony podstawnej w przebiegu astmy jest zjawiskiem obserwowanym od lat, udowodniono też w wielu pracach, że grubość błony podstawnej u chorych na astmę jest istotnie większa niż u osób zdrowych [4, 27, 30]. Według różnych źródeł średnia grubość błony podstawnej u osób zdrowych wynosi od $2,4$ do $9,9 \mu\text{m}$ [4, 25, 27, 30–32] (tab. 2).

Porównując te wartości z uzyskanymi w naszym badaniu (średnia $12,8 \pm 2,8 \mu\text{m}$), można wnioskować, że u badanych przez nas chorych na astmę zmiany strukturalne w postaci pogrubienia siateczkowatej błony podstawnej były wyraźnie zaznaczone. Pogrubienie błony podstawnej stwierdziliśmy zarówno u chorych na astmę epizodyczną (średnia $15,3 \pm 1,2 \mu\text{m}$), jak i chorych na astmę lekką (średnia $11,8 \pm 2,2 \mu\text{m}$) oraz umiarkowaną ($13,2 \pm 3,3 \mu\text{m}$). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy tymi grupami. Nasze wyniki pokrywają się z wynikami innych prac oceniających grubość błony podstawnej w astmie epizodycznej i przewlekłej [33, 34]. W badanej przez nas grupie średni czas trwania objawów choroby wyniósł 14 lat. Grupa badanych chorych była stosunkowo młoda, średnia wieku wyniosła 37 lat.

Słabą stroną pracy jest mała liczebność badanej grupy, ale należy podkreślić, że jest ona porównywalna do innych prac o podobnej tematyce (tab. 2), a poważnym czynnikiem ograniczającym liczbę badanych było badanie bronchofiberoskopowe.

W naszym badaniu nie stwierdzono zależności pomiędzy wiekiem chorych i grubością błony podstawnej. Nie znaleźliśmy także istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grubością błony podstawnej w grupie chorych ze świeżo rozpoznaną astmą w porównaniu do chorych, u których rozpoznanie postawiono przed laty. Nie było też związku grubości błony podstawnej z czasem trwania objawów, jak również ze stopniem ciężkości astmy. I chociaż istnieją doniesienia świadczące o związku nasilenia zmian strukturalnych ze stopniem jej ciężkości, jak też czasem trwania astmy [35–36], wyniki wielu badań, podobnie do naszego, wskazują na brak zależności pomiędzy grubością błony podstawnej a wiekiem chorych na astmę czy czasem trwania objawów choroby, jak też stopniem jej ciężkości [30, 37, 38].

Zmiany strukturalne pod postacią pogrubienia błony podstawnej stwierdzano nawet u chorych z lekką postacią astmy, zarówno u leczonych, jak i nieleczonych glikokortykosteroidami wziewnymi [39], ujawniano je także wtedy, gdy astma była

Tabela 2. Grubość błony podstawnej oskrzeli (w μm) u osób zdrowych i chorych na astmę. Zestawienie wyników niektórych badań**Table 2. Airway basement membrane thickness (μm) in healthy and asthma patients. Results of several studies**

Autor/Author	Zdrowi (n)/Healthy	Astma (n)/Asthma	Mikroskop/Microscopy
Roche 1989 [4]	4,17 \pm 0,59 (3)	7,95 \pm 1,79 (8)	ME
Ollerenshaw 1992 [25]	—	12 \pm 2 (10)	MŚ
Jeffery 1992 [6]	8,2 \pm 1,7 (12)	11,25 \pm 2,9 (11)	MŚ
Trigg 1994 [26]	—	23,13 \pm 3,44 (12)	ME
O'Shaughnessy 1996 [27]	4,3 \pm 0,4 (5)	8,3 \pm 0,6 (12)	MŚ
Milanese 2001 [28]	—	10,1 \pm 3,7 (11)	MŚ
Payne 2003 [30]	Dorośli/Adults 4,4 (8) Dzieci/Children 4,9 (10)	Dorośli/Adults 8,1 (10) Dzieci/Children 8,2 (19)	MŚ
Köksal 2005 [31]	4,1 \pm 1,7 (8)	—	MŚ

Podano średnie wartości grubości błony podstawnej w mikrometrach \pm odchylenie standardowe, n — liczba badanych chorych, ME — mikroskop elektronowy, MŚ — mikroskop świetlny/mean values of airway basement membrane in micrometers are presented \pm SD, n — number of patients, ME — electron microscopy, MŚ — light microscopy

dobrze kontrolowana [40]. Stwierdzono również obecność pogrubienia błony podstawnej u chorych na kilka lat przed rozpoznaniem astmy [41], a także u chorych z alergicznym nieżytem nosa [28] lub atopią [42], u których, przynajmniej podczas przeprowadzania badania, nie rozpoznawano astmy.

Należy podkreślić fakt, że badani przez nas chorzy nie stosowali wziewnych glikokortykosteroidów w okresie przynajmniej 3 miesięcy poprzedzających badanie. Zdaniem autorów ten warunek musiał być spełniony z uwagi na potencjalny wpływ (nawet krótkotrwałego) stosowania glikokortykosteroidów na zmiany strukturalne w drogach oddechowych, w tym grubość błony podstawnej [6, 8, 39].

Od czasu, gdy zauważono, że w astmie, podobnie jak w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc (POChP), może dojść do rozwoju przetrwałej, nieodwracalnej obturacji, wielu badaczy wiąże tę zmianę z przebudową oskrzeli. W wielu publikacjach powtarzają się przypuszczenia, że remodeling dróg oddechowych odpowiada również za nadreaktywność oskrzeli, cięższy przebieg choroby oraz oporność na leczenie, przede wszystkim glikokortykosteroidami [43]. Jednakże związek zmian strukturalnych oskrzeli z objawami klinicznymi i parametrami badań czynnościowych układu oddechowego pozostaje w wielu aspektach niewyjaśniony.

Jedną z pierwszych publikacji, w których opisano korelację pomiędzy pogrubieniem błony podstawnej oskrzeli a ograniczeniem przepływu powietrza w drogach oddechowych (wyrażonym jako zmniejszenie wartości FEV₁), była praca Kasahary i wsp. Na podstawie badania przeprowadzonego w grupie 22 chorych na astmę lekką i umiarkowaną autorzy stwierdzili istotną statystycznie korelację wartości FEV₁% w.n. po leku i grubości błony pod-

stawnej, a także FEV₁% w.n. po leku i grubości całej ściany oskrzela [9]. Znane są i inne doniesienia, w których wykazano związek pomiędzy grubością całej ściany oskrzela a stopniem obturacji u chorych na astmę [39]. Benayoun i wsp. stwierdzili związek pomiędzy obturacją i takimi cechami remodelingu, jak liczba fibroblastów zlokalizowanych pod błoną podstawną oraz hipertrofia (rozmiar komórek) mięśni gładkich w ścianie oskrzela [38]. Z kolei Minshall i wsp. wykazali, że im większa grubość błony podstawnej, tym większe ograniczenie przepływu powietrza w drogach oddechowych u chorych na astmę, czyli mniejsza wartość wskaźnika FEV₁% w.n. [44]. W kilku innych badaniach przeprowadzonych u chorych na astmę również stwierdzano ujemną korelację pomiędzy grubością błony podstawnej ocenianą w wycinkach oskrzelowych a wartością FEV₁% w.n. [35, 39].

Z tego samego okresu pochodzą wyniki badań innych autorów, w których nie stwierdzono zależności pomiędzy zmianami morfologicznymi ocenianymi w wycinkach a obturacją ocenianą w badaniu spirometrycznym. Saglani i wsp., badając dzieci z ciężką astmą, nie wykazali korelacji pomiędzy grubością błony podstawnej a wartościami FEV₁% w.n. zarówno przed podaniem, jak i po podaniu leku rozszerzającego oskrzela [45]. Payne i wsp. nie stwierdzili zależności pomiędzy grubością błony podstawnej i wartością FEV₁% w.n. oraz stężeniem tlenu azotu w powietrzu wydychanym wśród badanych dzieci [30]. Podobnie nie stwierdzili związku między obturacją i grubością błony podstawnej Boulet i wsp. u dorosłych [47] oraz Jenkins i wsp. u 6 dzieci z ciężką astmą [48]. W obecnej pracy również nie stwierdzono związku pomiędzy grubością błony pod-

stawnej i wynikami badań czynnościowych układu oddechowego.

Na uwagę zasługuje fakt, że niewielkie pogrubienie siateczkowatej błony podstawnej obserwowano również u chorych po przeszczepach płuc i nie stwierdzano korelacji pomiędzy jej grubością i wartością FEV₁ u tych pacjentów [49].

Ward i wsp., pośrednio przez badanie sprężystości oskrzeli i stwierdzenie związku pomiędzy sprężystością, grubością błony podstawnej i wynikami badania spirometrycznego, stwierdzili, że obturacja oskrzeli może zależeć od grubości błony podstawnej [50].

Rozbieżności wyników badań, w których oceniano związek pogrubienia błony podstawnej oraz wartości spirometrycznych, mogą mieć wiele przyczyn, jak na przykład różnice w stosowaniu glikokortykosteroidów wziewnych. W swym badaniu Ward i wsp. udowodnili, że zarówno przejawy remodelingu, takie jak pogrubienie błony podstawnej, jak i wartości wyników badań czynnościowych (spirometrycznego i testu nadreaktywności z metacholiną), mogą ulegać zmianom w czasie leczenia tymi lekami przeciwzapalnymi [51]. Brak związku FEV₁ z grubością błony podstawnej nie musi świadczyć o całkowitym braku wpływu zmian strukturalnych na funkcję płuc. Wydaje się, że obturacja u chorych na astmę najprawdopodobniej jest związana nie tylko z pogrubieniem błony podstawnej, ale również z innymi przejawami remodelingu, których w tym badaniu nie oceniano. Są doniesienia, w których sugerowano, że za zwężenie oskrzeli [52], jak i brak odwracalności obturacji dróg oddechowych w przebiegu astmy [53], odpowiada głównie przerost warstwy mięśniowej oskrzeli, a tej warstwy nie oceniano.

W astmie wiele innych czynników (poza zmianami określanymi mianem remodelingu) może wpływać na ograniczenie przepływu powietrza w drogach oddechowych. Mogą to być: skurcz oskrzeli, zapalny obrzęk błony śluzowej, wydzielina w świetle oskrzela. Z założenia chorzy kwalifikowani do niniejszej pracy nie stosowali glikokortykosteroidów w żadnej postaci, można więc przypuszczać, że oprócz remodelingu stopień obturacji oskrzeli był u nich uwarunkowany obecnością wyżej wymienionych odwracalnych przyczyn obturacji (np. obrzęk zapalny błony śluzowej oskrzeli).

Związek pomiędzy reaktywnością a remodelingiem oskrzeli również pozostaje niewyjaśniony. W wielu pracach stwierdzono obecność zależności między grubością błony podstawnej i nadreaktywnością oskrzeli u chorych na astmę [39, 47, 54]. Z kolei Boulet i wsp. stwierdzili zależność nadreaktywności oskrzeli i remodelingu dróg oddechowych,

wyrażonego jako pogrubienie ścian oskrzeli, w grupie chorych na astmę z przetrwałą obturacją, ale nie znaleźli takiego związku w grupie bez obturacji [55]. Boulet i wsp. [16] i Jeffery i wsp. [56] obserwowali korelację pomiędzy stopniem włóknienia podnabłonkowego a nadreaktywnością oskrzeli w grupie chorych na astmę lekką. Natomiast w omawianym badaniu, podobnie jak w pracy Roche i wsp., nie stwierdzono związku grubości błony podstawnej z wartością PC₂₀ [4]. Co więcej, wyniki niektórych badań wskazują, że remodeling oskrzeli może mieć znaczenie w zapobieganiu nadmiernemu skurczowi mięśni gładkich. Milanese stwierdził, że im grubsza błona podstawna, tym większa dawka metacholiny potrzebna do uzyskania dodatniego testu nadreaktywności [28].

Wnioski

Podsumowując, należy stwierdzić, że badanie konsekwencji remodelingu dróg oddechowych jest trudne, a wyniki badań klinicznych często rozbieżne. Wyniki badania sugerują, że pogrubienie błony podstawnej nie zależy od czasu trwania, stopnia ciężkości oraz wieku chorych. W pracy nie stwierdzono również związku pomiędzy grubością błony podstawnej a wynikami badań czynnościowych płuc w grupie chorych na astmę epizodyczną, lekką i umiarkowaną w stabilnym okresie choroby.

Jest to kolejne badanie, którego wyniki mogą sugerować brak związku między grubością błony podstawnej i obturacją oraz nadreaktywnością oskrzeli u chorych na astmę lub, co w świetle obecnej wiedzy wydaje się bardziej prawdopodobne, że samo pogrubienie błony podstawnej nie wiąże się z ograniczeniem przepływu powietrza w drogach oddechowych u tych chorych.

Piśmiennictwo

1. Hueber H., Koessler K. The pathology of bronchial asthma. *Arch. Intern. Med.* 1922; 30: 689.
2. Kountz W.B., Alexander H.L. Death from bronchial asthma. *Arch. Pathol.* 1928; 5: 1003–1019.
3. Dunnill M.S. The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J. Clin. Pathol.* 1960; 13: 27–33.
4. Roche W.R., Beasley R., Williams J.H., Holgate S.T. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989; 1: 520–523.
5. Brewster C.E., Howarth P.H., Djukanovic R., Wilson J., Holgate S.T., Roche W.R. Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 1990; 3: 507–511.
6. Jeffery P.K., Godfrey R.W., Adelroth E., Nelson F., Rogers A., Johansson S.A. Effects of treatment on airway inflammation and thickening of basement membrane reticular collagen in asthma. A quantitative light and electron microscopic study. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992; 145: 890–899.
7. Jeffery P.K. Remodeling in asthma and chronic obstructive lung disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 28–38.
8. Olivieri D., Chetta A., Del Donno M. i wsp. Effect of short-term treatment with low-dose inhaled fluticasone propionate on airway inflammation and remodeling in mild asthma: a placebo-controlled study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155: 1864–1871.

9. Kasahara K., Shiba K., Okazawa T., Okuda K., Adachi M. Correlation between the bronchial subepithelial layer and whole airway wall thickness in patients with asthma *Thorax* 2002; 57: 242–246.
10. Awadh N., Müller N.L., Park C.S., Abboud R.T., FitzGerald J.M. Airway wall thickness in patients with near fatal asthma and control groups: assessment with high resolution computed tomographic scanning. *Thorax* 1998; 53: 248–253.
11. Balzar S., Wenzel S.E., Chu H.W. Transbronchial biopsy as a tool to evaluate small airways in asthma. *Eur. Respir. J.* 2002; 20: 254–259.
12. Kips J.C., Pauwels R.A. Airway wall remodeling: does it occur and what does it mean? *Clin. Exp. Allergy* 1999; 29: 1457.
13. Vignola A.M., Kips J., Bousquet J. i wsp. Tissue remodeling as a feature of persistent asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 105: 1041.
14. Dunnill M.S., Massarella G.R., Anderson J.A. A comparison of the quantitative anatomy of the bronchi in normal subjects, in status asthmaticus, in chronic bronchitis, and in emphysema. *Thorax* 1969; 24: 176–179.
15. Ten Hacken N.H., Postma D.S., Timen S.W. Airway remodeling and long-term decline in lung function in asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2003; 9: 9–14.
16. Boulet L.P., Turcotte H., Laviolette M. i wsp. Airway hyperresponsiveness, inflammation and subepithelial collagen deposition in recently diagnosed versus long standing asthma. Influence of inhaled corticosteroids. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 162: 1308–1313.
17. Światowa Strategia Rozpoznawania, Leczenia i Prewencji Astmy. Raport WHO/ NHLBI, wydanie specjalne. *Medycyna Praktyczna* 6/2002.
18. Standardised lung function testing. Official statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993; 16: 1–100.
19. American Thoracic Society. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing 1999. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161: 309–329.
20. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Ftyzjopneumonologicznego dotyczące wykonywania badań spirometrycznych. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2004; 72 (supl. 2): 1–32.
21. Krenke R., Przybyłowski T., Górka K. i wsp. Wpływ bronchofiberoskopii i płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) na czynność serca u chorych na astmę. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2006; 74: 32–38.
22. Sullivan P., Stephens D., Ansari T., Costello J., Jeffery P.K. Variation in the measurements of basement membrane thickness and inflammatory cell number in bronchial biopsies. *Eur. Respir. J.* 1998; 12: 811–815.
23. Godard P., Chaintreuil J., Damon M. i wsp. Functional assessment of alveolar macrophages: comparison of cells from asthmatics and normal subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1982; 70: 88–93.
24. Elston W., Whittaker A.J., Khan L.N. i wsp. Safety of research bronchoscopy, biopsy and bronchoalveolar lavage in asthma. *Eur. Respir. J.* 2004; 24: 375–377.
25. Ollerenshaw S.L., Woolcock A.J. Characteristics of inflammation in biopsies from large airways of subjects with asthma and subjects with chronic airflow limitation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992; 145: 922–927.
26. Trigg C.J., Manolitsas N.D., Wang J. i wsp. Placebo-controlled immunopathologic study of four months of inhaled corticosteroids in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 150: 17–22.
27. O'Shaughnessy T.C., Ansari T.W., Barnes N.C., Jeffery P.K. Reticular basement membrane thickness in moderately severe asthma and smokers' chronic bronchitis with and without airflow obstruction. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 153: A879 (abstrakt).
28. Milanese M., Crimi E., Scordamaglia A. On the functional consequences of bronchial membrane thickening. *J. Appl. Physiol.* 2001; 91: 1035–1040.
29. Aleva R., Kraan J., Smith M., ten Hacken N.H.T., Postma D.S., Timens W. Quantity and morphology of bronchial biopsy specimens by forceps of three different sizes. *Chest* 1998; 113: 182–185.
30. Payne D., Rogers A.V., Adelroth E. i wsp. Early thickening of the reticular basement membrane in children with difficult asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 78–82.
31. Köksal D., Karnak D., Kayacan O., Bedir S., Erekuş S. Bronchitis index and mucosal biopsy findings in patients with chronic bronchitis. *Turk. Respir. J.* 2005; 6: 4–9.
32. Wilson J.W., Li X. The measurement of reticular basement and submucosal collagen in the asthmatic airway. *Clin. Exp. Allergy* 1997; 27: 363–371.
33. Vignola A.M., Chanez P., Campbell A.M. i wsp. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157: 403–409.
34. Chu H.W., Halliday J.L., Martin R.J., Leung D.Y.M., Szefer S.J., Wenzel S.E. Collagen deposition in large airways may not differentiate severe asthma from milder forms of disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158: 1936–1944.
35. Chetta A., Forsie A., del Donno M., Bertorelli G., Pesci A., Olivieri D. Airway remodeling is a distinctive feature in asthma and is related to severity of disease. *Chest* 1997; 111: 852–857.
36. Bai T.R., Cooper J., Koelmeyer T., Pare P.D., Weir T.D. The effect of age and duration of disease on airway structure in fatal asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 162: 663–669.
37. Jeffery P.K., Wardlaw A.J., Nelson F.C., Collins J.V., Kay A.B. Bronchial biopsies in asthma: an ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989; 140: 1745–1753.
38. Benayoun L., Druille A., Dombret M.C., Aubier M., Pretolani M. Airway structural alterations selectively associated with severe asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 1360–1368.
39. Shiba K., Kasahara K., Nakajima H., Adachi M. Structural changes of the airway wall impair respiratory function, even in mild asthma. *Chest* 2002; 122: 1622–1626.
40. van den Toorn L.M., Overbeek S.E., de Jongste J.C., Leman K., Hoogsteden H.C., Prins J.B. Airway inflammation is present during clinical remission of atopic asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 2107–2113.
41. Pohunek P., Warner J., Turzikova J., Kudrman J., Roche W.R. Markers of eosinophilic inflammation and tissue remodeling in children before clinically diagnosed bronchial asthma. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2005; 16: 43–51.
42. Barbato A., Turato G., Baraldo S. i wsp. Epithelial damage and angiogenesis in the airways of children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174: 975–981.
43. Pascual M.R., Peters S.P. Airway remodeling contributes to the progressive loss of lung function. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 116: 477–486.
44. Minshall E.M., Leung D.Y., Martin R.J. i wsp. Eosinophil-associated TGF-beta 1 mRNA expression and airways fibrosis in bronchial asthma. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 1997; 17: 326–333.
45. Saglani S., Papaioannou G., Khoo L. i wsp. Can HRCT be used as a marker of airway remodeling in children with difficult asthma? *Respir. Res.* 2006; 7: 46–51.
46. Little S.A., Sproule M.W., Cowan M.D. i wsp. High resolution computed tomographic assessment of airway wall thickness in chronic asthma: reproducibility and relationship with lung function and severity. *Thorax* 2002; 57: 247–253.
47. Boulet L.P., Laviolette M., Turcotte H. i wsp. Bronchial subepithelial fibrosis correlates with airway responsiveness to methacholine. *Chest* 1997; 112: 45–52.
48. Jenkins H.A., Cool C., Szefer S.J. i wsp. Histopathology of severe childhood asthma. *Chest* 2003; 124: 32–41.
49. Ward C., De Soyza A., Fisher A.J. i wsp. A descriptive study of small airway reticular basement membrane thickening in clinically stable lung transplant recipients. *J. Heart Lung Transplant.* 2005; 24: 533–537.
50. Ward C., Johns D.P., Bish R. i wsp. Reduced airway distensibility, fixed airflow limitation and airway remodeling in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 1718–1721.
51. Ward C., Pais M., Bish R. i wsp. Airway inflammation, basement membrane thickening and bronchial hyperresponsiveness in asthma. *Thorax* 2002; 57: 309–316.
52. Wiggs B.R., Bosken C., Pare P.D., James A., Hogg J.C. A model of airway narrowing in asthma and in COPD. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992; 45: 1251–1258.
53. Hirst S.J. Airway smooth muscle cell culture; application to studies of airway wall remodeling and phenotype plasticity in asthma. *Eur. Respir. J.* 1996; 9: 808–820.
54. Hoshino M., Nakamura Y., Sim J.J. Expression of growth factors and remodelling of the airway wall in bronchial asthma. *Thorax* 1998; 53: 21–27.
55. Boulet L., Belanger M., Carrier G. Airway responsiveness and bronchial-wall thickness in asthma with or without fixed airflow obstruction. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 865–871.
56. Jeffery P.K., Latinen A., Venge P. Biopsy markers of airway inflammation and remodelling. *Respir. Med.* 2000; 94 (supl. F): 9–15.