

Т.Ф.Боровская, Э.Х.Курпас, С.Н.Гориславец, С.Л.Бачалдин, А.В.Волков

ДИНАМИКА ИММУННОГО ОТВЕТА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДОЛЕВОГО БРОНХА У БОЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЕЙ

Хабаровский филиал ДНЦ ФПД СО РАМН — НИИ охраны материнства и детства,
Окружной военный клинический госпиталь № 301

DYNAMICS OF IMMUNE RESPONSE IN A LOBAR BRONCHUS MUCOSA IN PNEUMONIA PATIENTS

T.F.Borovskaya, E.Kh.Kurpas, S.N.Gorislavets, S.L.Bachaldin, A.V.Volkov

Summary

A quantitative composition of the immunocompetent cell subpopulations in mucous membrane of a lobar bronchus was studied in pneumonia patients according to the illness course. Features of the cell infiltrate composition in the proper lamina were revealed and a phenotypic characteristic of interepithelial lymphocytes in the lobar bronchus mucosa was found.

Резюме

Изучали количественный состав субпопуляций иммунокомпетентных клеток слизистой оболочки долевого бронха у больных пневмонией в динамике болезни. Выявили особенности состава клеточного инфильтрата собственной пластинки и определили фенотипическую характеристику межэпителиальных лимфоцитов слизистой оболочки долевого бронха в динамике пневмонии.

Известно, что к иммунному аппарату дыхательных путей относят диффузно рассеянные клетки лимфоидного ряда, располагающиеся в толще покровного эпителия, а также в виде тонкого слоя лимфоидных клеток под эпителием, возле желез и в их строме [4]. Среди клеток преобладают лимфоциты, ретикулярные клетки, макрофаги, фибробласты, встречается небольшое число плазматических клеток. По мнению *Д.Н.Маянского* [3], субэпителиальные клетки дыхательных путей способны захватывать корпускулярные частицы, очищая воздухоносные пути от пыли и чужеродных частиц, а также они обладают морфогенетической функцией и играют важную роль в сохранении структуры слизистой оболочки. Иммунокомпетентные клетки (ИКК) различаются по фенотипу и выполняют определенную функцию (функции) в сохранении морфологической структуры слизистой, поэтому актуально изучение состояния местного иммунного ответа при патологических состояниях.

Целью исследования явилось определение фенотипа и числа ИКК в слизистой оболочке долевого бронха больных пневмонией для получения более полного представления об участии клеток иммунной системы в воспалительном процессе и местных иммунных реакциях.

Нами обследованы 73 больных пневмонией среднетяжелого течения в возрасте от 18 до 24 лет. У 67 из них зарегистрирована очаговая пневмония (у 59 — односторонняя, у 8 — двусторонняя), у 6 боль-

ных — крупозная пневмония. Средний возраст больных составил $19 \pm 0,11$ года.

Группу контроля составили 12 практически здоровых пациентов в возрасте от 14 до 19 лет, поступивших в клиники Хабаровска по поводу удаления инородного тела бронха, которые по результатам клинико-инструментального обследования были признаны здоровыми. Больные находились на обследовании и лечении в профильных отделениях Окружного военного клинического госпиталя № 301 и торакальном отделении детской краевой многопрофильной клинической больницы № 2.

В профильных отделения госпиталя больным пневмонией среднетяжелого и тяжелого течения проводили санацию дыхательных путей, во время которой забирали материал для выявления возбудителя заболевания с целью оптимального подбора терапии. В связи с этим для изучения состояния местного иммунитета слизистой оболочки бронхов при пневмонии мы с согласия больного проводили забор биоптата на 5–7-й день от начала заболевания (во время проведения санации). Кроме того, с целью определения эффективности проводимого лечения (наличие остаточных явлений воспаления), а также изменений местной иммунной реакции нами на 25–30-й день после купирования всех клинических симптомов и в отдаленные сроки после перенесенного заболевания (60–120-й день) было проведено контрольное взятие биоптата.

Фенотипическая характеристика ИКК эпителиального пласта и собственной пластинки СОКБ у больных пневмонией в динамике болезни

Показатель, %	Острый период, n=15		Период реконвалесценции, n=25		Отдаленные сроки, n=8		Контроль, n=10	
	Э	С	Э	С	Э	С	Э	С
CD45RO, T Cell (OPD4)	13,65±3,01	27,04±3,66	11,51±1,38	23,53±2,05	8,39±2,56	21,37±1,68	5,90±0,59	23,75±1,19
CD45RO, T Cell (UCHL1)	15,66±2,02	29,84±3,08	9,29±0,74	19,48±0,71	3,70±0,77	17,39±2,84	4,31±0,46	19,05±0,63
CD20cy, B Cell (L26)	1,74±0,43	5,25±0,11	0,73±0,25	2,21±0,28	0,59±0,21	4,72±1,06	1,12±0,24	5,69±0,18
<i>Natural killer cell-like</i> (NK1)	0,46±0,13	2,29±0,52	0,25±0,09	1,43±0,29	0,18±0,07	0,84±0,25	0	0,94±0,30
HAM56	1,93±0,58	2,69±0,30	1,14±0,30	1,91±0,18	0,43±0,17	1,63±0,27	0	2,50±0,23
CD68 (PG-M1)	1,88±0,53	3,34±0,41	0,90±0,19	2,88±0,34	0,56±0,24	2,06±0,18	0,26±0,16	2,85±0,22
<i>Plasma Cell</i> (VS38c)	0,23±0,08	3,28±0,41	0,15±0,06	1,39±0,34	0,16±0,19	2,52±0,73	0	2,93±0,25
IgM	0,18±0,10	1,08±0,32	0,16±0,11	0,76±0,15	0,10±0,06	0,43±0,31	0	0,27±0,05
IgG (A57H)	0,24±0,12	1,14±0,12	0,20±0,09	0,84±0,33	0,28±0,25	0,68±0,13	0	0,16±0,03
IgA (6E2C1)	2,75±0,42	3,84±0,25	1,27±0,24	1,74±0,17	0,96±0,35	1,79±0,07	1,44±0,24	2,66±0,24

Примечание. Э — эпителия, С — строма.

Достоверность:

Показатели, %	Достоверность											
	p ₁		p ₂		p ₃		p ₄		p ₅		p ₆	
	Э	С	Э	С	Э	С	Э	С	Э	С	Э	С
CD45RO, T Cell (OPD4)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,02	>0,05	>0,05	>0,05
CD45RO, T Cell (UCHL1)	<0,002	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001	<0,01	<0,001	>0,05	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05
CD20cy, B Cell (L26)	<0,05	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,005	>0,05	<0,001	>0,05	>0,05
<i>Natural killer cell-like</i> (NK1)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	—	>0,05	>0,05	>0,05	—	>0,05	—	>0,05
HAM56	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	—	>0,05	>0,05	>0,05	—	>0,05	—	<0,05
CD68 (PG-M1)	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
<i>Plasma Cell</i> (VS38c)	>0,05	<0,002	>0,05	>0,05	—	>0,05	>0,05	>0,05	—	<0,01	—	>0,05
IgM	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	—	<0,05	>0,05	>0,05	—	>0,05	—	>0,05
IgG (A57H)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	—	<0,001	>0,05	>0,05	—	>0,05	—	<0,001
IgA (6E2C1)	<0,002	<0,001	<0,02	<0,001	<0,05	<0,005	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05	<0,01

Примечание. p₁ — достоверность различий между показателями в группе больных в остром периоде болезни и периоде реконвалесценции; p₂ — достоверность различий между показателями в группе больных в остром периоде болезни и в отдаленные сроки наблюдений; p₃ — достоверность различий между показателями в группе больных в остром периоде болезни и в контрольной группе; p₄ — достоверность различий между показателями в группе больных в периоде реконвалесценции и в отдаленные сроки; p₅ — достоверность различий между показателями наблюдений группы больных в периоде реконвалесценции и контрольной группы; p₆ — достоверность различий между показателями в группе больных в отдаленные сроки и в контрольной группе.

Биоптаты слизистой оболочки долевого бронха фиксировали в 10% нейтральном формалине, идентификацию ИКК на срезах, полученных при использовании общепринятых гистологических методик, осуществляли с помощью МКА фирмы "Dako" (Дания). Выявляли Т Cell (OPD4) — CD4⁺-хелперы/индукторы; CD45RO, Т Cell (UCHL1) — CD4⁺-хелперы/индукторы, CD8⁺-цитотоксические, зрелые активированные Т-лимфоциты, гранулоцитарно-моноцитарные клетки; CD68, *Macrophage* (PG-M1) — не активированные макрофаги; *Macrophage* (HAM56) — активированные, интердигитирующие макрофаги; *Natural killer cell-like* (NK1) — большие гранулярные лимфоциты; CD20cy, В Cell (L26) В-иммунобласты; *Plasma Cell* (VS38c) — нормальные и неопластические плазматические клетки различных тканей, некоторые эпителиальные клетки; IgM-плазматические клетки, имеющие рецепторы к IgM; IgG (A57H)-плазматические клетки, имеющие рецепторы к IgG, В-иммунобласты; IgA (6E2C1)-тяжелые цепи молекулы IgA, плазматические клетки и их предшественники.

В таблице представлен количественный состав ИКК эпителиального пласта и собственной пластинки слизистой оболочки долевого бронха у больных пневмонией в динамике болезни, выявленный методом иммуногистохимии.

Как показано в таблице, в собственной пластинке слизистой оболочки долевого бронха контрольной группы ИКК с фенотипом NK1 (*Natural killers cell-like*) (рис.1), HAM56, *Plasma Cell* (VS38c), IgM и IgG (AS7H) мы выявили только в строме, остальные — и в эпителии, и в строме.

В динамике болезни и в отдаленные сроки после перенесенного заболевания ИКК с фенотипом CD45RO (Т Cell-OPD 4), CD45RO (Т Cell-UCHL1), CD20cy (В Cell-L26), CD68 (PG-M1) и IgA (6E2C1) регистрировали, как в эпителиальном пласте, так и в собственной пластинке слизистой оболочки долевого бронха. Причем во всех случаях в эпителиальном

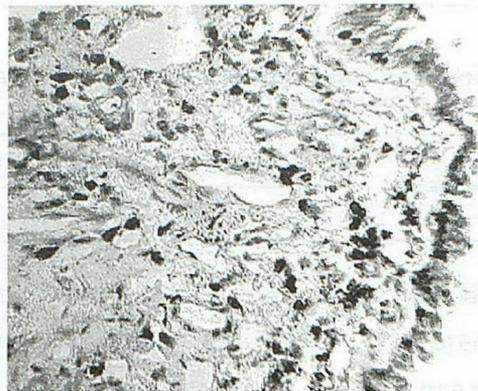


Рис.2. Очаговая пневмония средней доли правого легкого, период ранней реконвалесценции. Стенка долевого бронха. Иммунокомпетентные клетки с фенотипом CD45RO Т Cell (UCHL1), выявленные методом иммуногистохимии с авидином (стрептавидином), меченным ферментом. Окраска альциановым синим, азур-эозином. $\times 300$.

пласте ИКК регистрировали в меньшем количестве, чем в строме слизистой оболочки.

Кроме того, интересным является тот факт, что наиболее высокие показатели количественных изменений в динамике болезни при максимальном увеличении их числа в остром периоде болезни мы регистрировали при выявлении ИКК с фенотипом CD45RO (Т Cell-UCHL1) и клеток, синтезирующих IgA (6E2C1). При этом наблюдали достоверное по сравнению с периодом реконвалесценции (рис.2) ($p < 0,02$; $p < 0,001$) и контрольной группой ($p < 0,001$; $p < 0,01$) повышение числа клеток с фенотипом CD45RO (Т Cell-UCHL1) как в эпителии, так и в строме соответственно (рис.3), а в сравнении с показателями, выявленными в отдаленные сроки после перенесенного заболевания, только в эпителии ($p < 0,01$). Кроме того, в остром периоде болезни в собственной пластинке слизистой оболочки долевого бронха больных пневмонией мы регистрировали достоверное увеличение в сравнении с контрольной группой числа ИКК, секретирующих IgA ($p < 0,05$;

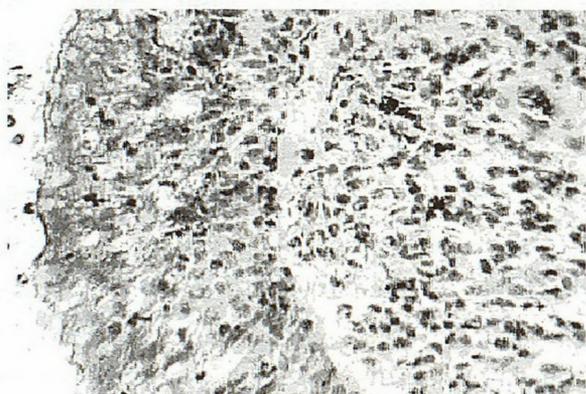


Рис.1. Инородное тело средней доли правого легкого. Стенка долевого бронха. Вариант нормы. Иммунокомпетентные клетки с фенотипом NK 1 (*Natural killer cell-like*), выявленные методом иммуногистохимии с авидином (стрептавидином), меченным ферментом. Окраска альциановым синим, азур-эозином. $\times 300$.



Рис.3. Очаговая пневмония в нижней доле правого легкого, острый период болезни. Стенка долевого бронха. Иммунокомпетентные клетки с фенотипом CD45RO Т Cell (UCHL1), выявленные методом иммуногистохимии с авидином (стрептавидином), меченным ферментом. Окраска альциановым синим, азур-эозином. $\times 200$.

$p < 0,005$), и ИКК с фенотипом CD45RO T Cell (UCHL1) в эпителии и строме (см. рис.2) ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно), ИКК, секретирующих IgM ($p < 0,05$) и IgG ($p < 0,001$), только в строме, а ИКК с фенотипом CD68 (PG1-M1) ($p < 0,05$) и CD45RO T Cell (OPD4) ($p < 0,05$) только в эпителии.

В периоде реконвалесценции в эпителиальном слое слизистой оболочки долевого бронха сохранялось высоким по сравнению с показателями контрольной группы (но снижалось в сравнении с острым периодом болезни) число клеток с фенотипом CD45RO T Cell (OPD4) ($p < 0,02$), CD45RO T Cell (UCHL1) ($p < 0,001$) и CD68 ($p < 0,05$), а в строме достоверно уменьшилось в сравнении с контролем (и с острым периодом болезни) число CD20су B Cell ($p < 0,001$), Plasma Cell ($p < 0,01$) и ИКК, секретирующих IgA (6E2C1) ($p < 0,01$).

В отдаленные сроки было выявлено увеличение — в 4,2 раза по сравнению с показателем в контрольной группе числа клеток, секретирующих IgG ($p < 0,001$), но уменьшение в 1,5 раза HAM56 ($p < 0,05$) и ИКК, секретирующих IgA в эпителии и строме ($p < 0,01$).

Регистрируемое нами увеличение ИКК, находящихся в эпителиальном пласте и в строме, в остром периоде болезни претерпевало изменение в виде постепенного снижения их в периоде реконвалесценции и в отдаленные сроки не только до цифр, аналогичных группе контроля (OPD4, UCHL1, NK1, CD68) или ниже уровня контроля (CD20, IgA), но и выше показателей контрольной группы (Plasma Cell, IgM, IgG). Кроме того, в динамике болезни показана тенденция всех популяций ИКК к снижению процентного содержания клеток в собственной пластинке слизистой оболочки долевого бронха. Интересным является факт, что в отдаленные сроки мы регистрировали наиболее низкие показатели тех популяций ИКК (в сравнении с контролем), где их увеличение в остром периоде было незначительным, и показатели ИКК не достигают нормальных величин в отдаленные сроки после перенесенного заболевания. Это указывает, что восстановление структуры слизистой оболочки долевого бронха произошло, возможно, не у всех лиц, перенесших пневмонию.

Известно, что Т-лимфоциты очень важны в процессе местной иммунологической регуляции состоя-

ния воздухоносных путей, особенно после действия стимулирующих факторов, в том числе антигенов [5]. В частности, высвобождение ИЛ-2 активированными Т-лимфоцитами играет важную аутокринную роль. Кроме того, Т-лимфоциты совместно с антиген-презентирующими макрофагами высвобождают ряд других цитокинов (ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6), которые стимулируют премирование, продукцию специфических антител В-клетками и активацию тучных клеток и эозинофилов [6].

Таким образом, выявленная нами в процессе исследования динамика участия стромальных клеток слизистой оболочки долевого бронха в воспалительном процессе при пневмонии указывает на их кооперирование и координацию, что обеспечивается выработкой и экскрецией клетками различных цитокинов — медиаторов направленного действия [1,2] — в реализации межклеточных взаимодействий на различных стадиях активации иммунной системы. И поэтому дальнейшее определение локализации и функциональных свойств, а также числа фенотипически различающихся ИКК в слизистой оболочке дыхательных путей в зависимости от степени выраженности морфологических изменений позволит оптимизировать способы более полного восстановления ее структуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козлова И.П., Симбирцев А.С., Александрова В.А., Варюшина Е.А. Особенности иммунного статуса и продукции цитокинов у детей с Н.рyлогу-ассоциированной гастроуденальной патологией. В кн.: Материалы Международной науч.-практ. школы-конференции "Цитокины. Воспаление. Иммунитет". СПб.; 2002. 140.
2. Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Уровни провоспалительных цитокинов в норме и при патологии. Там же. 141.
3. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. М.: Медицина; 1991.
4. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М.: АПП "Джингар"; 2000.
5. Dexter T.M. Hemopoietic growth factor. Brit. Med. Bull. 1989; 45 (2): 337.
6. Mattoli S., Kleimberg J., Stacey M.A. et al. The role of CD8⁺ Th2 lymphocytes in the development of smoking-related lung damage. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997; 239 (1): 146–149.

Поступила 06.12.02