

© М.Т. Луценко, 2010
УДК 616.233-018.73:616.248

М.Т. Луценко

КОМПЬЮТЕРНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ МЕТАПЛАЗИИ ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ БРОНХОВ ЧЕЛОВЕКА

Лаборатория «Механизмы этиопатогенеза неспецифических заболеваний органов дыхания» (зав. — академик РАМН проф. М.Т. Луценко), Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, г. Благовещенск

С использованием компьютерной программы Bio Vision детально прослежены этапы формирования метаплазии многорядного столбчатого эпителия слизистой оболочки бронхов у 65 больных с бронхиальной астмой различной степени тяжести. При анализе биоптатов выявлены изменения плотности ядра и цитоплазмы клеток, а также базальной мембраны.

Ключевые слова: бронхи, слизистая оболочка, метаплазия, бронхиальная астма, программа Bio Vision.

Метаплазия — стойкое превращение одной разновидности ткани в другую, отличную от первой морфологически и функционально при сохранении её основной видовой принадлежности [1–4, 8–10]. У человека наблюдается метаплазия только эпителиальной и соединительных тканей. Такие явления наблюдаются в воздухоносных путях, где многорядный столбчатый эпителий бронхов в этом случае принимает внешний вид многослойного плоского эпителия, а также в пищеварительной системе и в слизистой оболочке мочевой системы.

В бронхах этот процесс встречается в виде либо отдельных очагов, либо обширных участков [2, 12]. При такой перестройке естественные качества, изначально присущие этому виду эпителия, утрачиваются.

В дыхательной системе при длительно протекающих воспалительных процессах (хронический обструктивный бронхит, бронхиальная астма — БА и др.) метаплазированный многорядный столбчатый эпителий бронхов, превращаясь в многослойный пласт, не может оставаться в таком состоянии длительное время. Такой метаплазированный эпителий либо разрушается, сохраняясь в виде однослойного кубического пласта на базальной мембране, слабо контактируя с ней, либо появляются различные формы злокачественного роста: плоскоклеточный рак бронха и др. [1, 2, 11, 13, 14].

Однако нельзя точно установить, когда происходит метаплазия и на каком этапе может произойти её перестройка в злокачественную опухоль. С помощью моделей трехмерной организации эпителиальных пластов отдельные исследователи пытаются понять суть топологических перестроек тканей при метаплазии, дисплазии и злокачественном росте [5–7]. Однако закономер-

ностей этого явления не удается выявить, используя препараты, окрашенные обычными гистологическими методами.

Для оценки характера формирования метаплазии многорядного эпителия слизистой оболочки бронхов был применен метод компьютерной обработки срезов по программе Bio Vision.

Исследованы биоптаты, взятые у 65 больных с БА, в том числе 22 женщин и 43 мужчин в возрасте от 20 до 45 лет. 32 больных были с легким течением заболевания (10 женщин и 22 мужчины), 20 — со средней степенью тяжести (9 женщин и 11 мужчин) и 13 — с тяжелой формой (3 женщины и 10 мужчин). Обследования проводили на базе стационара терапевтического отделения клиники Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания СО РАМН. Исследования выполняли в соответствии с рекомендациями Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Биоптаты брали на уровне среднедолевого бронха и сегментарных бронхов базальной пирамиды нижней доли правого легкого с помощью биопсийных щипцов FB 19 C через инструментальный канал бронхоскопа «Olympus» (Япония). Материал фиксировали в жидкости Карнуа для окраски по методу ШИК — Моури, а также в параформальдегиде для заливки в аралдит и приготовления полутонких срезов на ультрамикротоме LKB-8800 (Швеция), помещали их на стекла фирмы Shandon (США) и анализировали при помощи программы Bio Vision (Version 2, West Medika GmbH, Austria) и микроскопа Opton

(Германия). Выбранные участки фотографировали при общем увеличении микроскопа 400 на пленке Kodak-200 Color-Plus (США). Пленку после проявления анализировали на сканере Epson perfection 2580 Photo (Япония).

Компьютер был сопряжен с камерой Pixera-model PVC 100С (Япония), позволяющий работать с программой Bio Vision. В программе Bio Vision выбранные кадры (биопсийный материал, взятый от больных с БА легкой и средней тяжести), калибровали по размерам (10 см×300 пикселей/дюйм) и вводили в программу сканирования. После этого производили калибровку по ранжированию объекта.

В настоящем исследовании взята в расчет фаза плотности в 60 пикселей, позволяющая определить участки самой высокой плотности.

На препаратах слизистой оболочки бронхов при средней степени тяжести заболевания БА, окрашенных по Ван-Гизону, невозможно различить характер дифференцировки эпителиальных клеток. Эпителиальный пласт выглядит как структура, потерявшая специфику своего строения — многорядного столбчатого эпителия, и приобретает вид многослойного плоского эпителия (рис. 1, а). Аналогично очень трудно судить о структурных изменениях в эпителиальных клетках даже на полутонких срезах, окрашен-

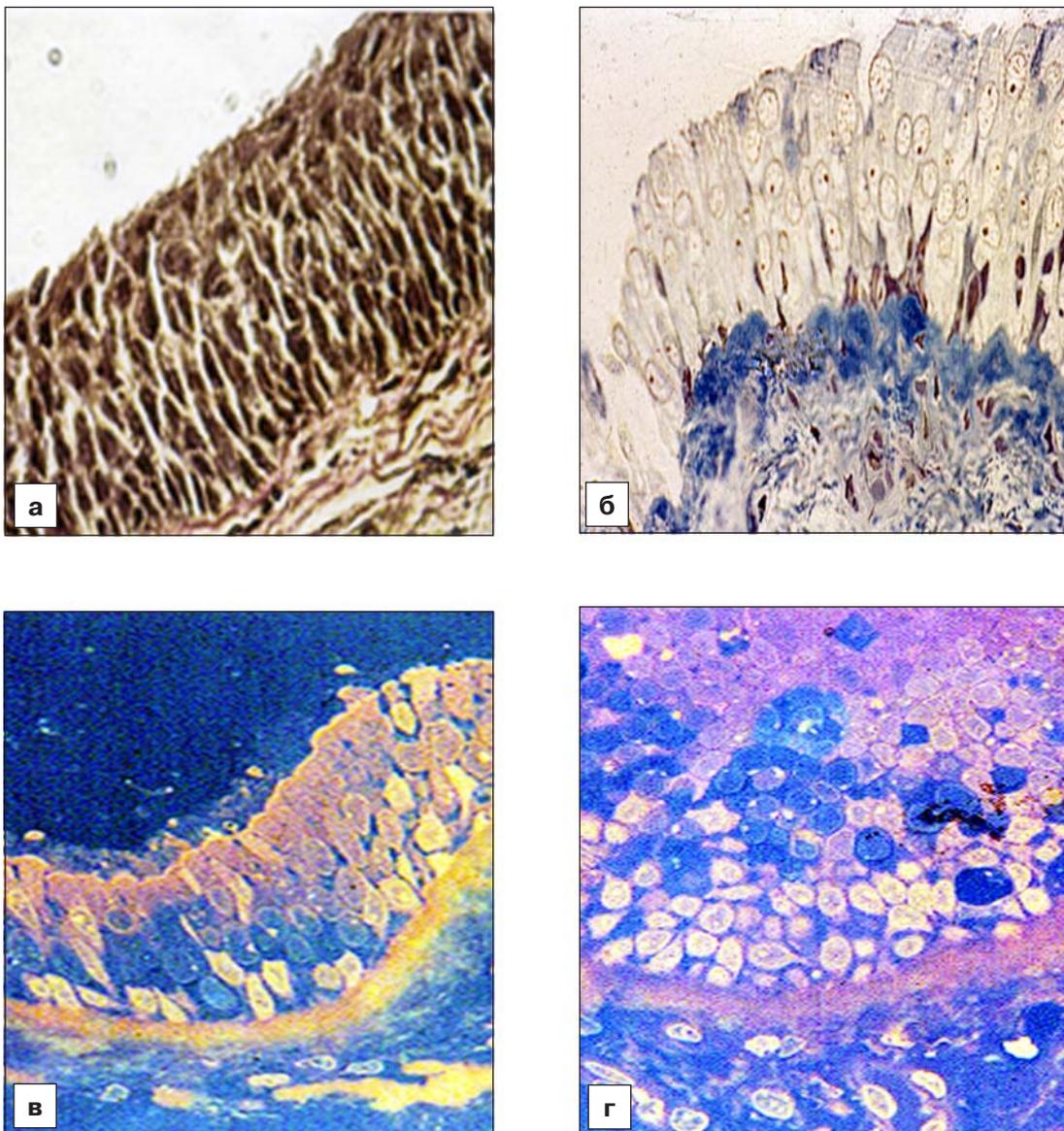


Рис. 1. Строение слизистой оболочки бронхов человека с легким течением бронхиальной астмы.

а — метаплазия многорядного столбчатого эпителия слизистой оболочки бронхов при окраске по Ван-Гизону; б — метаплазия многорядного столбчатого эпителия слизистой оболочки бронхов при окраске толуидиновым синим (полутонкий срез); в — метаплазия, наружная часть базальной мембраны уплотнена. Полутонкий срез, обработка компьютерным методом по Bio Vision. Ранж — 60; г — метаплазия эпителиального пласта, базальная мембрана отчетливо уплотнена. Наружные слои клеток эпителиального пласта уплотнены, теряют связь друг с другом. Обработка компьютерным методом по Bio Vision. Ув.: а — 400; б-г — 600.

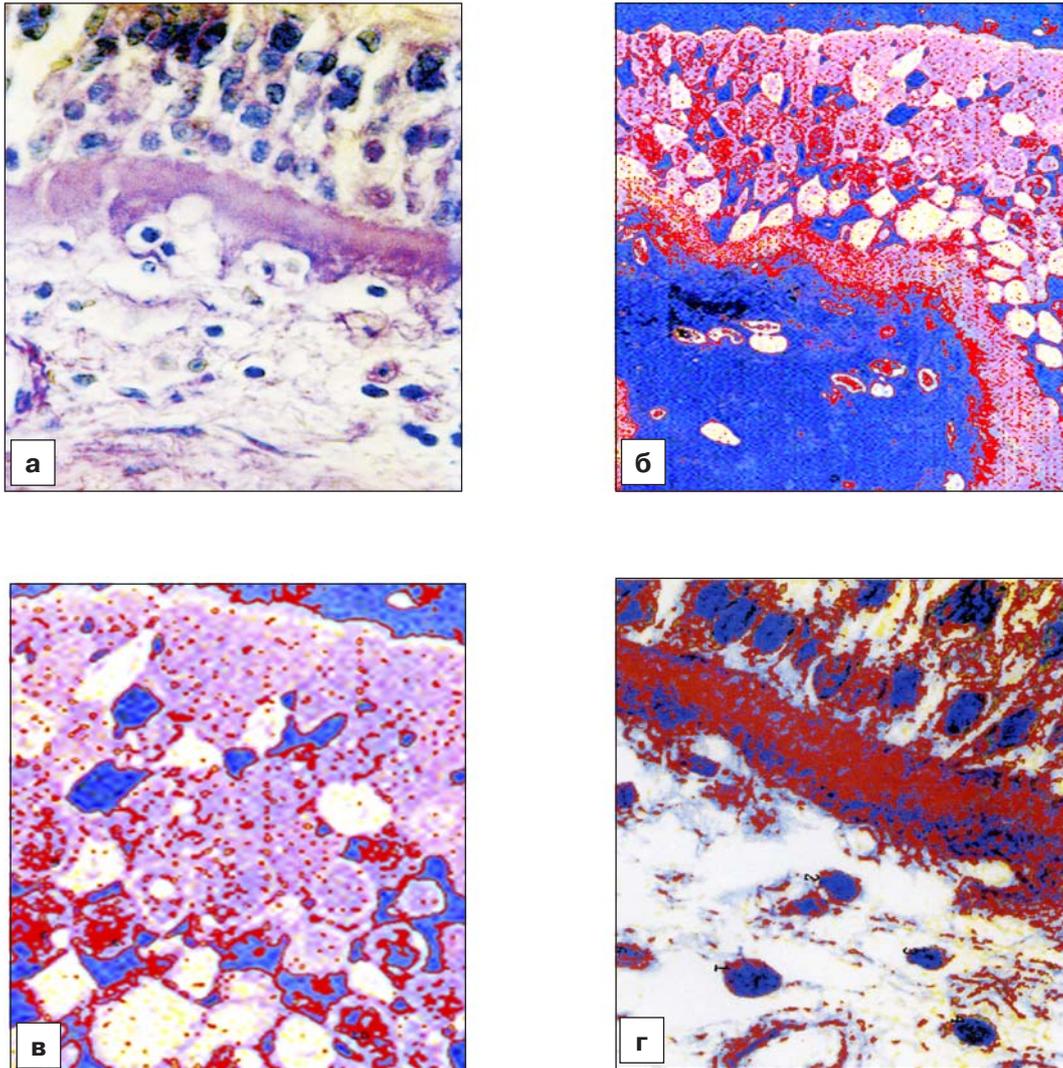


Рис. 2. Строение слизистой оболочки бронхов человека при тяжелой форме бронхиальной астмы.

а — срез окрашен по методу ШИК – Моури. Границы клеток отчетливо не выявляются, базальная мембрана окрашена однородно; б — внутренняя и наружная поверхности базальной мембраны уплотнены, камбиальные клетки не изменены, в остальных клетках эпителиального пласта уплотнены как ядра, так и цитоплазма; в — то же, что на рис. 2, б; г — базальная мембрана резко уплотнена; камбиальные клетки также уплотнены. б – г — компьютерная обработка по программе Bio Vision. Раж — 60. Ув.: а, б — 600; в, г — 900.

ных толуидиновым синим. Базальная мембрана, несмотря на значительные изменения в строении эпителиального пласта (средняя степень тяжести БА, 1–2 года), выглядит как однородная структура (см. рис. 1, б).

Обработка компьютерным методом с использованием программы Bio Vision дает возможность увидеть, что поверхность базальной мембраны, обращенная в сторону камбиальных клеток, уплотнена (см. рис. 1, в). Эпителиальные клетки метаплазированного пласта, наиболее удаленные от базальной мембраны, имеют признаки уплотнения, как ядерного вещества, так и цитоплазмы. Клетки четко контурируются, их границы уплотнены.

При более затянувшейся (3–5 лет) БА средней степени тяжести чаще встречаются участки метаплазированного многорядного столбчатого эпителия слизистой оболочки бронхов, где нарастает число клеток, удаленных от базальной мембраны, с признаками уплотнения ядра и цитоплазмы. Камбиальные клетки сохраняют привычный по плотности ядра и цитоплазмы характер строения. Базальная мембрана становится более плотной (см. рис. 1, г).

При отчетливо выраженной метаплазии эпителиального пласта слизистой оболочки бронхов, наступающей у людей с затянувшейся средней степени тяжести БА, потери различия клеточных элементов при обычных методах окраски не наблюдается. Базальная мембрана, хотя и утолще-

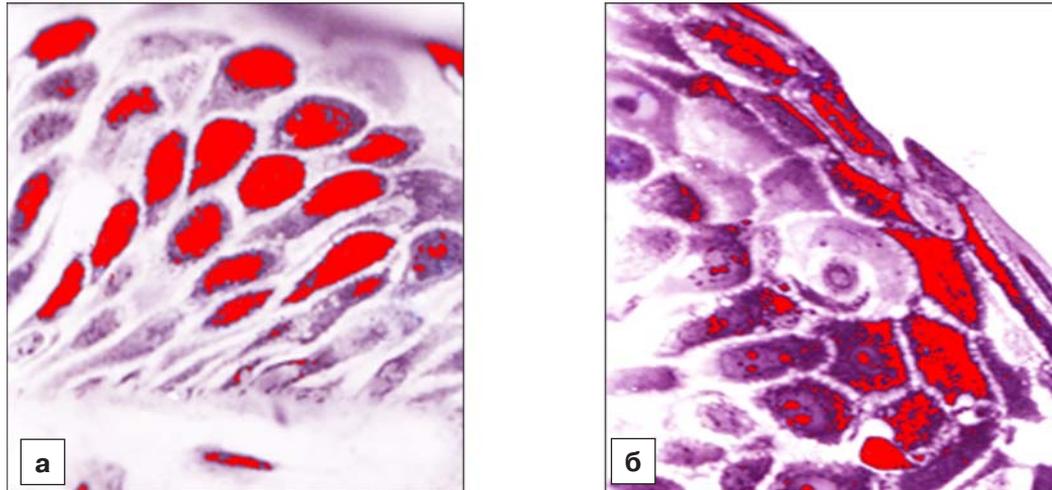


Рис. 3. Участок метаплазированного многорядного столбчатого эпителия слизистой оболочки бронхов при тяжелой форме бронхиальной астмы.

а — эпителиальные клетки большей частью уплотнены (особенно ядра); б — разрушение эпителиального пласта, на его поверхности клетки приобретают плоскую форму. Обработка компьютерным методом по программе Bio Vision. Ранж — 60. Ув. 900.

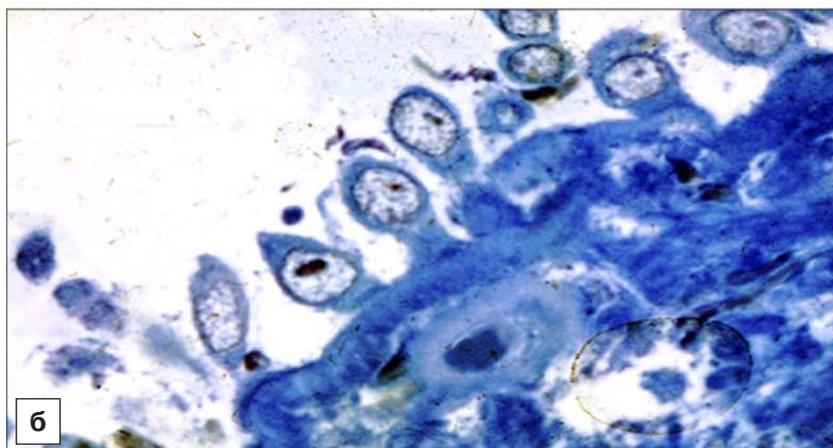
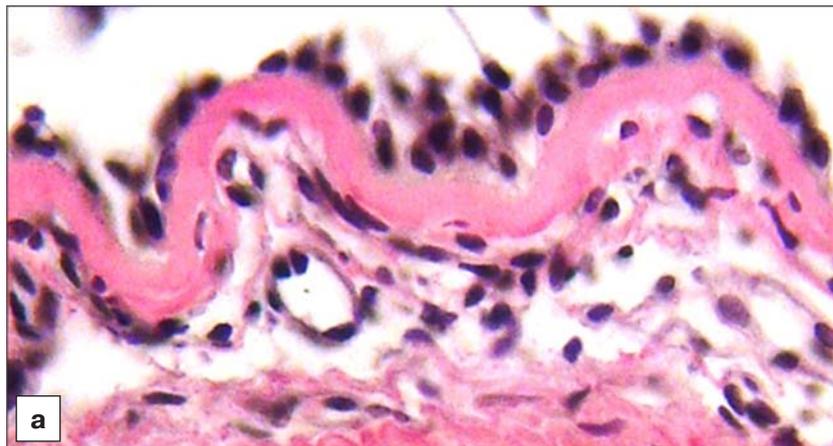


Рис. 4. Слизистая оболочка бронха при тяжелой форме бронхиальной астмы.

а — тотальное уплотнение базальной мембраны. Нарушение целостности эпителиального пласта, клетки которого слущиваются; б — единичные эпителиальные клетки, слабо связанные с базальной мембраной. а — окраска гематоксилином Бёмера — эозином; б — полутонкий срез, окраска — толуидиновым синим; Ув.: а — 400; б — 900.

на, но даже при окраске по методу ШИК – Моури не выявляется никакого структурного различия (рис. 2, а). На срезах, приготовленных из того же блока, но изученных компьютерным методом с использованием программы Bio Vision, обнаруживается различие, как в структуре базальной мембраны, так и среди клеток эпителия (см. рис. 2, б). Базальная мембрана уплотнена с наружной и внутренней стороны (см. рис. 2, б, в). Камбиальные клетки остаются еще не затронутыми деструктивным процессом, в то же время большая часть клеток эпителиального пласта теряют присущий им изначально тип строения (промежуточные, бокаловидные, реснитчатые клетки), проявляя резкое уплотнение ядер и цитоплазмы (см. рис. 2, в), превращаются в округлые или овальные клетки, а на поверхности пласта — в плоские (рис. 3, а, б).

При тяжелой форме БА эпителиальный пласт, в силу нарушения трофических процессов, начинает разрушаться. Только отдельные клетки остаются в контакте с базальной мембраной через цитоплазматические мостики (рис. 4, а, б).

Таким образом, на препаратах, окрашенных общепринятыми методами: гематоксилином — эозином, по Ван-Гизону, методом ШИК — Моури, очень трудно оценить плотность базальной мембраны, а также характер перестройки эпителиальных клеток в направлении от базальной мембраны к поверхности пласта. Используя новый метод компьютерного анализа по программе Bio Vision, можно обнаружить морфологические изменения при развитии процессов метаплазии, учитывая плотность (ранж) структуры ядра и цитоплазмы клеток эпителиального пласта. Особенно этот метод становится удачным при оценке изменения эпителиальной выстилки слизистой оболочки бронхов на биопсийном материале, взятом у больных с БА, когда явления метаплазии постепенно нарастают по мере усиления тяжести заболевания. При этом можно видеть многие детали, недоступные при применяемых в настоящее время методах гистологической и гистохимической обработки тканей.

На изученном материале удалось установить, что уже в период средней тяжести БА базальная мембрана резко уплотняется как с внутренней, так и с наружной стороны, чем, вероятно, и объясняется нарушение трофики эпителиального пласта, который при БА тяжелой степени, лишенный необходимой доставки питательного материала, разрушается и превращается в однослойный кубический эпителий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л.И. Качество заживления гастродуоденальных язв: функциональная морфология, роль методов патогенети-

ческой терапии. Экспер. клин. гастроэнтерол., 2006, № 5, с. 1–16.

2. Краевский Н.А., Смольяников А.В. и Саркисов Д.С. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. Руководство для врачей. т. 1, М., Медицина, 1993.
3. Пальцев М.А. и Аничков Н.М. Патологическая анатомия. М., Медицина, 2001.
4. Рихельман Г. и Лопатин А.С. Мукоцилиарный транспорт: экспериментальная и клиническая оценка. Российская ринология, 1994, № 4, с. 33–47.
5. Савостьянов Г.А. Исследование процессов специализации и интеграции клеток и морфогенез в норме и патологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 1992.
6. Савостьянов Г.А. Принципы пространственной организации клеточных пластов. Биофизика, 2001, т. 46, вып. 3, с. 512–517.
7. Савостьянов Г.А. и Грефнер Н.М. Предпосылки к управлению морфогенезом эпителиальных пластов. В кн.: Управление морфогенезом тканей и органов в процессе адаптации. Иркутск, Изд-во Иркутск. мед. ин-та, 1989, т. 1, с. 107–108.
8. Серов В.В., и Пальцев М.А. Лекции по патологической анатомии болезней. М., Медицина, 1998.
9. Bell W., Enss M.L., Muller S et al. Role of vacA and cagA in Helicobacter pylori inhibition of nucleic acid synthesis in gastric mucous cell. J. clinical cure. Boston, London, Kluwer Acad. publ., 2000, p. 155–168.
10. Correa P. and Piazuelo M.B. Pathology of gastric intestinal metaplasia: clinical implications. Amer. J. Gastroenterol., 2010, v. 105, № 3, p. 493–498.
11. Dermer G.B. Origin of bronchioloalveolar carcinoma and peripheral bronchial adenocarcinoma. Cancer, 1982, v. 49, № 5, p. 881–887.
12. Eromoro Y., Orihara K., Takamasu T. et al. Tissue remodeling induced by hypersecreted epidermal growth factor and amphiregulin in the airway after an acute asthma attack. J. Allergy Clin. Immunol., 2009, v. 24, № 5, p. 913–920.
13. Naumann H.H. The defense mechanisms of the respiratory mucosa towards infection. Acta Otolaringol., 1980, v. 89, № 34, p. 165–176.

Поступила в редакцию 19.09.09
Получена после доработки 15.04.10

COMPUTER METHOD FOR THE ASSESSMENT OF EPITHELIAL METAPLASIA IN HUMAN BRONCHIAL MUCOUS MEMBRANE

M.T. Lutsenko

Using Bio Vision computer program, the successive stages of metaplastic changes development were traced in the pseudostratified columnar ciliated epithelium of bronchial mucous membrane obtained from 65 patients with bronchial asthma of various degrees of severity. Biopsy material analysis demonstrated the changes of cell nuclear and cytoplasmic density, as well as of basement membrane.

Key words: bronchi, mucous membrane, metaplasia, bronchial asthma, Bio Vision program

Laboratory of the Mechanisms of Etiopathogenesis and Regenerative Processes of Respiratory Organs in Non-specific Pulmonary Diseases, Far Eastern Center of Respiratory Physiology and Pathology, RAMS SB, Blagoveshchensk