



УДК 616.24-07:616.379-008.64

О. А. Пивоварова

**Зміна компонентів неспецифічного захисту респіраторної системи при цукровому діабеті**

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

**Ключові слова:** цукровий діабет, дихальна система, імунітет вроджений.

Нині недостатньо вивчено систему неспецифічних факторів захисту дихальної системи при цукровому діабеті. З метою оцінювання стану компонентів неспецифічного захисту респіраторної системи при цукровому діабеті вивчили клітинний склад повітряноносних шляхів за допомогою діагностичної бронхоскопії у 63 пацієнтів із цукровим діабетом і 46 практично здорових осіб. Об'єктом для гістологічного дослідження респіраторної системи при експериментальному цукровому діабеті стали 47 шурів та 43 інтактних тварини (самців) лінії Wistar. Протягом дослідження клітинного складу рідини бронхоальвеолярного секрету встановлено критерії порушень клітинних механізмів неспецифічного захисту респіраторної системи при інсуліновій недостатності у вигляді підвищення активності нейтрофілів і пригнічення функціональної активності епітеліоцитів і альвеолярних макрофагів, що свідчить про розвиток ендобронхіту з дистрофічним перетворенням миготливого епітелію слизової оболонки бронхіального дерева.

**Изменение компонентов неспецифической защиты респираторной системы при сахарном диабете**

О. А. Пивоварова

В настоящее время недостаточно изучена система неспецифических факторов защиты дыхательной системы при сахарном диабете. С целью оценки состояния при сахарном диабете изучили клеточный состав воздухоносных путей с помощью диагностической бронхоскопии у 63 пациентов с сахарным диабетом и 46 практически здоровых лиц. Объектом для гистологического исследования респираторной системы при экспериментальном сахарном диабете стали 47 крыс и 43 интактных животных (самцов) линии Wistar. При исследовании клеточного состава жидкости бронхоальвеолярного секрета установлены критерии нарушений клеточных механизмов неспецифической защиты респираторной системы при инсулиновой недостаточности в виде повышения активности нейтрофилов и угнетения функциональной активности эпителиоцитов и альвеолярных макрофагов, что свидетельствует о развитии эндобронхита с дистрофическим преобразованием мерцательного эпителия слизистой оболочки бронхиального дерева.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, дыхательная система, иммунитет врожденный.*Запорожский медицинский журнал. – 2014. – №3 (84). – С. 34–37***Change of the components of nonspecific protection of respiratory system in diabetes mellitus**

О. А. Pivovarova

Aim. System of nonspecific respiratory protection factors in diabetes is currently insufficiently studied.

Methods and results. 63 diabetic patients and 46 healthy individuals passed diagnostic bronchoscopy. Histological examination of the respiratory system in experimental diabetes mellitus have been done in 47 rats and 43 intact animals (male) line Wistar.

Conclusion. Mechanisms of nonspecific protection of the respiratory system in insulin deficiency, neutrophil activity and inhibition of the functional activity of epithelial cells and alveolar macrophages were established.

**Key words:** Diabetes Mellitus, Respiratory System, Innate Immunity.*Zaporozhye medical journal 2014; №3 (84): 34–37*

За даними спеціалізованої літератури, бронхіти і бронхопневмонії домінують в інфекційній патології у хворих на цукровий діабет (ЦД) [1]. Як відомо, місцем репродукції вірусів і розмноження бактерій є клітини епітеліальної вистилки дихального тракту [2], тому роль неспецифічних факторів захисту дихальної системи при ЦД у стійкості до збудників респіраторних вірусних і бактеріальних інфекцій величезна.

У системі «зовнішніх бар'єрів» слизова оболонка дихальних шляхів являє собою першу лінію захисту організму проти різноманітних патогенних факторів навколишнього середовища [3]. У місцевому захисті від інфекції важливе місце належить епітеліальному клітинам, що виробляють ряд речовин і характеризуються антимікробною активністю [4].

Чимало авторів вказують на неспроможність неспецифічних факторів захисту при захворюваннях дихальних шляхів, що й зумовлює поширення інфекційного агента в нижчі структури легень, призводячи до розвитку патологічного процесу [5]. Але, незважаючи на велику кількість інформації щодо цього питання, стан неспецифічного захисту респіраторної системи у пацієнтів із ЦД вивчено недостатньо.

**Мета роботи**

Оцінити стан компонентів неспецифічного захисту респіраторної системи при ЦД.

**Матеріали і методи дослідження**

Обстежили 63 пацієнтів із ЦД (середній вік – 53,1±1,2 року) і 46 практично здорових осіб віком (47,8±3,5 року) (усі дані наведені у вигляді середніх арифметичних і стандартної помилки середнього –  $M \pm m$ ). Тривалість захворювання на ЦД становила 13,2±0,45 року. Хворі на ЦД, а також особи контрольної групи не палили і не мали в анамнезі захворювань бронхолегеневої системи.

Субстратом для вивчення клітинного складу бронхів був бронхоальвеолярний секрет (БАС), який отримували під час діагностичної бронхоскопії за стандартною методикою, що описана [6]. Життєздатність клітинних елементів оцінювали за допомогою тесту на виключення трипанового синього [7]. Дослідженню функціональної активності клітин бронхоальвеолярного простору передувало поділ клітин за адгезивністю. Як інтегральний тест для оцінювання потенційної мікробіцидної активності клітин, що фагоцитують, застосо-



ували НСТ-тест [8]. Фагоцитарну активність альвеолярних макрофагів (АМ) оцінювали за результатами інкубації АМ із полістероловими частинками латексу (визначення фагоцитарного числа – ФЧ і фагоцитарного індексу – ФІ).

Об'єкт для гістологічного дослідження – 47 білих щурів (самців) лінії Wistar із початковою масою  $234,00 \pm 2,64$  г, вік – 5–6 місяців. Контрольну групу для гістологічного дослідження становили 43 інтактних білих щури (самці) лінії Wistar із масою тіла  $234,00 \pm 2,64$  г, вік – 5–6 місяців. Лабораторних тварин отримали із ПП «Біомодельсервіс» (ідентифікаційний код – 39186459), їх дослідили на лептоспіроз.

Модель експериментального цукрового діабету (ЕЦД) відтворювали одноразовим внутрішньочеревним введенням щурам Wistar стрептозоцину (SIGMA, США) в 0,1 М цитратному буфері рН 4,5 у дозі 60 мг/кг. Стрептозоцин вводили після попередньої 24-годинної депривації їжі при збереженому доступі до води. З метою формування повного і стабільного діабету тварин утримували протягом 11 діб на стандартній дієті.

Роботу із тваринами здійснювали відповідно до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що ухвалені Першим національним конгресом із біоетики (Київ, 2001), та міжнародних вимог згідно із «Європейською конвенцією захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific].

Концентрацію глюкози крові з хвостової вени визначали глюкозооксидазним методом. Для подальших досліджень використовували тільки тварин із підвищеним рівнем глюкози ( $> 11$  ммоль/л).

Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації.

У всіх спостереженнях для гістологічного дослідження використовували матеріал, фіксований у 10% нейтральному формаліні. За стандартними методиками [9] виготовляли парафінові зрізи, забарвлювали гематоксиліном і еозином. Матеріал опрацювали на світло-оптичному мікроскопі Olympus (Japan) VX-41 із використанням програмного за-

безпечення для аналізу відеозображення QuickPhoto Micro 2.3 (ФРН).

Статистичний аналіз виконали із використанням пакета ліцензійних програм «Statistica» (версія ОС: 6.1.7601.2.1.0.256.1, ліцензійний номер – AX908A29080603AL), «Microsoft Excel» [10].

### Результати та їх обговорення

Під час дослідження клітинного складу рідини БАС у пацієнтів із ЦД встановили статистично вірогідне зниження життєздатності епітеліоцитів (ЖЕ) слизової оболонки бронхіального дерева на 18,1% у порівнянні з аналогічними показниками в контрольній групі.

Серед активних факторів неспецифічного захисту бронхолегеневої системи важливе місце посідають високодиференційовані клітини легенів – АМ. Здатність АМ поглинати чужорідний матеріал тісно пов'язана із їхньою життєздатністю і є одним із показників функціонального стану. У пацієнтів із ЦД констатовано вірогідне зниження ЖАМ на 14,9% у порівнянні з контрольною групою (рис. 1).

Крім цього, функціональний стан АМ, що виділили із БАС, оцінювали за допомогою НСТ-тесту. У групі пацієнтів із ЦД НСТ-позитивних АМ зафіксовано на 20,7% менше у порівнянні з контрольною групою.

При цитологічному вивченні матеріалу встановили порушення функціональної здатності клітин, що фагоцитують, у пацієнтів із ЦД у вигляді зниження поглинальної здатності АМ на 19,9% у порівнянні з результатами в контрольній групі.

Статистичний аналіз ФІ показав, що у осіб із ЦД цей показник був на 18,4% менше у порівнянні з даними групи практично здорових осіб (рис. 2).

Відомо, запальний процес у легенях викликає значне надходження нейтрофілів, що секретують різні протеїнази і можуть мати відношення до паренхіматозної деструкції та хронічної гіперсекреції слизу. Багато авторів відзначають: у складній ієрархії клітинних відносин при захворюваннях дихальної системи ключовим елементом є нейтрофіл.

У цьому дослідженні кількості нейтрофілів бронхоальвеолярної рідини встановлено, що у групі хворих на ЦД

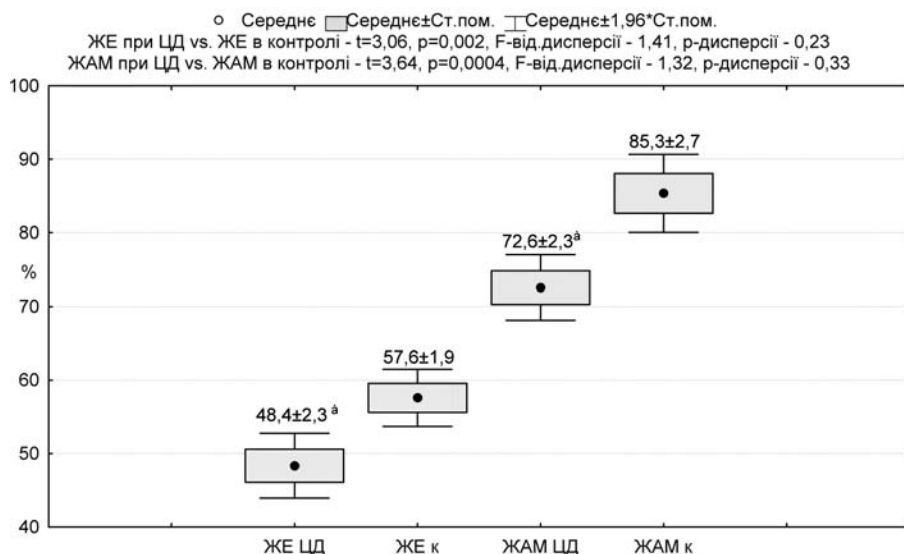


Рис. 1. Життєздатність епітеліоцитів і альвеолярних макрофагів рідини бронхоальвеолярного лаважу у групах.  
Примітка: <sup>a</sup> –  $p \leq 0,001$  у порівнянні з контрольною групою.

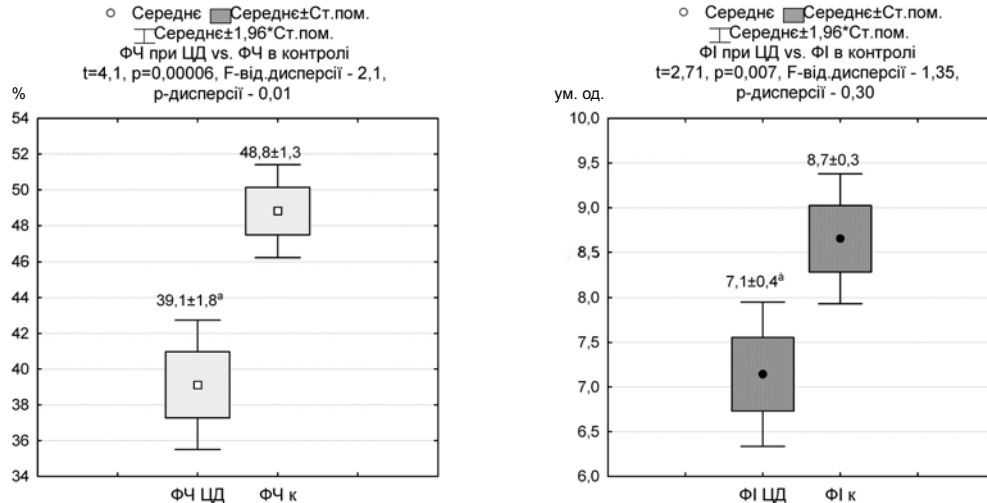


Рис. 2. Показник фагоцитарного числа і фагоцитарного індексу у групах.  
Примітка: <sup>a</sup> –  $p \leq 0,001$  у порівнянні з контрольною групою.

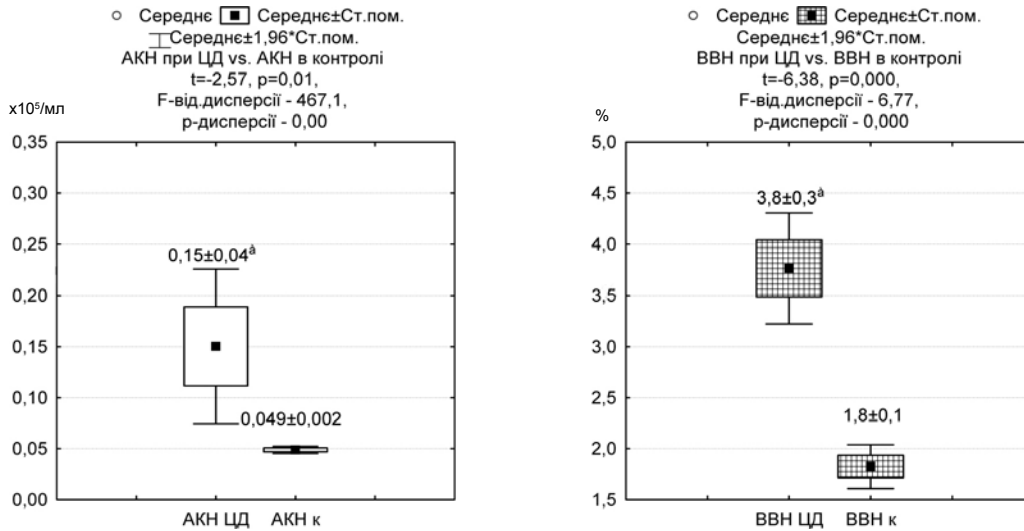


Рис. 3. Абсолютна кількість і відносний вміст нейтрофілів у групах.  
Примітка: <sup>a</sup> –  $p \leq 0,01$  у порівнянні з контрольною групою.

абсолютна кількість нейтрофілів (АКН) була на 67,3% більше, ніж у контрольній. Відносний вміст нейтрофілів (ВВН) у рідині БАС у групі пацієнтів із ЦД був підвищеним на 52,6% у порівнянні з показниками практично здорових осіб (рис. 3).

У результаті гістологічного дослідження структурно-функціональні альтерації епітеліальної вистилки (ЕВ) виявили у 47 (100%) щурів із групи ЕЦД і у 15 (34,9%) контрольної групи.

Гістологічні трансформації ЕВ характеризувались якісними змінами на 65 гістологічних зрізах у щурів з ЕЦД, у контрольній групі – у 20; кількісними змінами – на 41 у групі з ЕЦД і на 9 гістологічних зрізах – у контрольній групі.

Якісний показник альтерації ЕВ дихальних шляхів характеризувався статистично вірогідним потовщенням вій у 15 (31,9%) щурів з ЕЦД та у 3 (6,9%) контрольної групи, зменшенням висоти вій у 21 (44,7%) тварини з ЕЦД та у 5 (11,6%) із контрольної групи аж до атрофії вій у 17 (36,2%) щурів з ЕЦД та рівнозначними показниками нерівномірності розподілу в обох групах щурів (табл. 1).

Таблиця 1

**Характеристика гістологічних змін епітеліальної вистилки у щурів з експериментальним цукровим діабетом і в контрольній групі**

Гістологічні зміни епітеліальної вистилки	Групи щурів	
	ЕЦД (n=47)	Контрольна група (n=43)
Потовщення вій	15 (31,9%) <sup>a</sup>	3 (6,9%)
Зменшення кількості вій	24 (51,06%) <sup>a</sup>	8 (18,6%)
Нерівномірність розподілу вій	12 (25,5%)	12 (27,9%)
Втрата вій (облісіння)	9 (19,1%) <sup>a</sup>	-
Зменшення висоти вій	21 (44,7%) <sup>a</sup>	5 (11,6%)
Атрофія вій	17 (36,2%) <sup>a</sup>	-
Посилення багаторядності	8 (17,02%) <sup>a</sup>	1 (2,3%)

Примітка: <sup>a</sup> –  $p < 0,05$  статистично вірогідна відмінність між змінами у структурі епітеліальної вистилки у щурів з експериментальним цукровим діабетом у порівнянні зі щурами контрольної групи.



Кількісна ознака представлена статистично вірогідним зменшенням кількості вій у 24 (51,06%) шурів з ЕЦД та у 8 (18,6%) із контрольної групи, посиленням багаторядності у 8 (17,02%) тварин з ЕЦД та у 1 (2,3%) із контрольної групи, наявністю зон «облісіння» епітеліальної висилки дихальних шляхів у 9 (19,1%) шурів з ЕЦД.

Деякі гістологічні альтерації ЕВ дихальних шляхів подаємо на рис. 4.

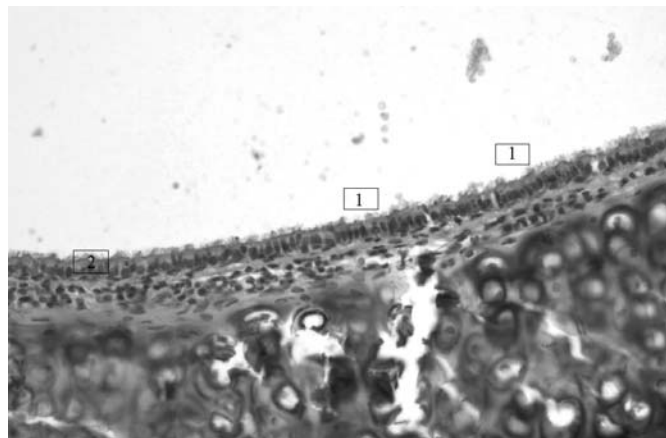


Рис. 4. Зони «облісіння» епітеліальної висилки нижніх дихальних шляхів (забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 200$ ).

Примітки: 1 – епітеліальна висилка без наявності вій; 2 – над'ядерна зона.

Внаслідок виявлення порушення функціональної активності ЕВ на гістологічних препаратах у 36 (76,6%) шурів

з ЕЦД та 13 (30,2%) тварин контрольної групи визначили активний запальний процес в епітеліальному пласті трахеобронхіального дерева.

#### Висновки

1. Виявили зміну кількісних показників, метаболічної та функціональної активності клітин бронхоальвеолярного простору в пацієнтів із ЦД у порівнянні з показниками осіб контрольної групи.

2. Встановлено пригнічення функціонування та життєздатності епітеліоцитів і АМ у БАС у пацієнтів із ЦД, що є показником неспроможності неспецифічного захисту респіраторної системи при порушенні вуглеводного обміну.

3. Збільшення цитозу у групі із ЦД зумовлене збільшенням абсолютного і відносного числа нейтрофілів, що, ймовірно, пов'язане зі збільшенням міграції в бронхоальвеолярний простір формених елементів крові.

4. Критерієм патологічних відхилень при гістологічному дослідженні ЕВ бронхіального дерева є зміна її якісних і кількісних показників, що свідчить про порушення неспецифічного захисту у групі шурів з ЕЦД у результаті вуглеводних дистрофічних перетворень миготливого епітелію слизової оболонки бронхіального дерева.

5. Результатом дисфункції компонентів неспецифічного захисту дихальної системи при ЦД є розвиток активного запального процесу в повітроносних шляхах.

**Перспективи подальших наукових досліджень** полягають у вивченні питань ультраструктурних змін складових неспецифічного захисту респіраторної системи при цукровому діабеті.

#### Список літератури

- Wang G. Analysis of pulmonary function in 298 patients with diabetes mellitus / G. Wang, X. Jiang, C. Bai // *Chest*. – 2010. – Vol. 138. – № 4. – P. 565A.
- Cell specific markers for eosinophils and neutrophils in sputum and bronchoalveolarlavage fluid of patients with respiratory conditions and healthy subjects / [T. Metso, P. Venge, T. Haahtela et al.] // *Thorax*. – 2002. – Vol. 57. – № 5. – P. 449–451.
- Lessons from the world trade center disaster: airway disease presenting as restrictive dysfunction / [K.I. Berger, J. Reibman, B.W. Oppenheimer et al.] // *Chest*. – 2013. – Vol. 144. – № 1. – P. 249–257.
- Руководство по морфологии клеток бронхоальвеолярного лаважа / [С.В. Зиновьев]. – Благовещенск: АГМА, 2010. – 206 с.
- COPD: Outcomes for COPD Pharmacological Trials: From Lung Function to Biomarkers / [M. Cazzola, W. MacNee, F.J. Martinez et al.] // *European respiratory journal*. – 2008. – Vol. 31. – № 2. – P. 416–469.
- Armin E. Introduction to Bronchoscopy / [E. Armin]. – N.Y.: Cambridge University Press, 2009. – 178 с.
- Лабораторные методы исследования системы гемостаза / [Е.Д. Гольдберг, В.П. Балуда, З.С. Баркаган и др.]. – Томск, 1980. – 313 с.
- Морфологические и цитологические исследования в диагностике бронхолегочной патологии: методические рекомендации для врачей. – М., 1995. – 17 с.
- Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники: руководство / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, 1969. – 423 с.
- Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / [О.Ю. Реброва]. – М.: Медиа Сфера, 2006. – 305 с.
- Metso, T., Venge, P., Haahtela, T., Peterson, C. G. B., & Sevéus, L. (2002) Cell specific markers for eosinophils and neutrophils in sputum and bronchoalveolarlavage fluid of patients with respiratory conditions and healthy subjects. *Thorax*, 5(57), 449–451. doi:10.1136/thorax.57.5.449.
- Berger, K. I., Reibman, J., Oppenheimer, B. W., Vlahos, I., Harrison, D., Goldring, R. M. (2013) Lessons from the world trade center disaster: airway disease presenting as restrictive dysfunction. *Chest*, 1(144), 249–257.
- Zinovev, S. V. (2010) *Rukovodstvo po morfologii kletok bronkhoalveolyarnogo lavazha* [Guide to cell morphology bronchoalveolar lavage]. Blagoveshensk: AGMA. [in Russian].
- Cazzola, M., MacNee, W., Martinez, F. J., Rabe, K. F., Franciosi, L. G., Barnes, P. J., et al. (2008) COPD: Outcomes for COPD Pharmacological Trials: From Lung Function to Biomarkers. *European respiratory journal*, 2(31), 416–469. doi: 10.1183/09031936.00099306.
- Armin, E. (2009) *Rukovodstvo po bronkhoskopii* [Introduction to Bronchoscopy]. New York: Cambridge University Press.
- Holdberg, E. D., Baluda, V. P., & Barkagan, Z. S. (1980) *Laboratornye metody issledovaniya sistemy gemostaza* [Laboratory methods of the hemostatic system]. Tomsk: Nayka. [in Russian].
- (1995) *Morfologicheskie i citologicheskie issledovaniya v diagnostike bronkholegochnoj patologii* [Morphological and cytological studies in the diagnosis of bronchopulmonary diseases]. Moscow: Meditsina. [in Russian].
- Merkulov, G. A. (1969) *Kurs patogistologicheskoy tekhniki* [The course of pathohistological techniques]. Moscow: Meditsina. [in Russian].
- Rebrova, O. Yu. (2006) *Statisticheskij analiz medicinskih dannykh* [Statistical analysis of medical data]. Moscow: MediaSfera. [in Russian].

#### Відомості про авторів:

Піварова О.А., к. мед. н., доцент каф. внутрішньої медицини, ДЗ «Луганський державний медичний університет»,  
E-mail: aksiniyalosk@mail.ru.

Поступила в редакцію 25.02.2014 г.