

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ ЭПИТЕЛИЯ ВОЗДУХОНОСНЫХ ПУТЕЙ КРЫС ПРИ ИХ ИНТРАТРАХЕАЛЬНОМ ИНФИЦИРОВАНИИ БАКТЕРИМИ С АНТИЛАКТОФЕРРИНОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Инфицирование животных бактериями без антилактоферриновой активности демонстрирует морфологическую картину катарального бронхита с адекватной активизацией клеточных элементов мукоцилиарного клиренса и иммунной системы, направленных на элиминацию возбудителя. Заражение крыс высокоперсистентным штаммом вело к развитию склеротических форм бронхита с тенденцией к хронизации патологического процесса.

**Ключевые слова:** персистентные свойства бактерий, антилактоферриновая активность, воздухоносный эпителий.

В ходе эволюции многие бактерии приобрели способность длительно сохраняться в организме хозяина, подавляя его адаптивные и приспособительные потенции, что связано с формированием у прокариот факторов персистенции (Бухарин О.В., 1999). Одним из естественных барьеров, стоящих на пути микробной инвазии, является покровный эпителий воздухоносных путей. Однако ряд бактерий может инактивировать местные неспецифические факторы антибактериальной защиты мерцательного эпителия, к которым относят многофункциональный белок лактоферрин. Это свойство прокариот получило название антилактоферриновой активности (Вальшев А.В., Вальшева И.В., 2006).

Цель настоящего исследования – изучить особенности структурно-функциональной реорганизации эпителия трахеи и внутрилегочных бронхов в условиях его взаимодействия с двумя штаммами *Staphylococcus aureus*, различными по признаку антилактоферриновой активности.

### Материалы и методы

Исследование было проведено на 45 белых беспородных крысах-самцах, массой 210 – 240 г., которым интратрахеально вводили два штамма *Staphylococcus aureus*, обладающих антилактоферриновой активностью и без таковой. Животных разделили на две подгруппы. В первой подгруппе 15 особей были инфицированы *S. aureus* с антилактоферриновой активностью. Во второй подгруппе 15 животных инфицированы штаммом *S. aureus* без антилактоферриновой активности. В качестве контроля для второй серии опытов интактным крысам вводили

интратрахеально 0,2 мл изотонического раствора хлорида натрия (15 крыс). Материал от экспериментальных и контрольных животных второй серии забирали на 1, 3, 7 сутки после введения бактерий / стерильного раствора.

Материалом для дальнейшего исследования служили кусочки трахеи и бронхов, которые обрабатывались с использованием методов световой и электронной микроскопии, а также методами иммуногистохимии (идентификация про- и антиапоптотических генов).

### Результаты и обсуждение

В случае инфицирования крыс микробным штаммом без антилактоферриновой активности совокупность результатов светооптических, электронномикроскопических и иммуноцитохимических исследований слизистой оболочки показал, что уже на ранних стадиях развивался воспалительный процесс с преобладанием инфильтративно-экссудативных изменений. Отмечались полнокровные сосуды микроциркуляции, стазы, краевое стояние лейкоцитов, диapedез клеток крови, а также выраженный периваскулярный и перибронхиальный отек. Повышение проницаемости сосудов способствует инвазии микробов в их стенку с последующей транслокацией.

Значительные альтеративные изменения проявлялись деструкцией эпителиоцитов, которые слущивались с небольших участков и оказывались в просвете бронхов, где также наблюдалось скопление слизи и лейкоцитов.

Ультроструктурный анализ реснитчатых клеток позволил обнаружить патоген внутри их цитоплазмы, что свидетельствовало об ак-

тивной его транслокации из просвета бронхов в слизистую оболочку бронхов с разрушением части ресничек эпителиоцитов. Тем не менее, на апикальной поверхности данных клеток возникали цитоплазматические выросты, длиной 0,4 – 0,6 мкм, напоминающие микроворсинки, в основании которых определяются инвагинации плазмолеммы. Эти плазматические выросты содержали иногда комплекс микрофиламентов. Идентификация подобных ультраструктур может свидетельствовать о возможном (в данных условиях эксперимента) цилиогенезе (Целуйко С.С., Доровских В.А., 1994).

Среди реснитчатых эпителиоцитов преобладали клетки с фрагментацией и вакуолизацией канальцев эндоплазматического ретикулума, который хорошо развит и расположен главным образом в надъядерной зоне клетки.

В данных клетках комплекс Гольджи хорошо развит, цистерны его расширены и содержат субстраты средней электронной плотности. В непосредственной близости от него встречались лизосомы диаметром 0,5 – 0,7 мкм, которые сливались с митохондриями. Здесь же обнаруживались скопления рибосом, которые окружали и миелоноподобные ультраструктуры.

Базальные клетки покровного эпителия слизистой оболочки бронхов имеют крупное ядро с выраженными ядрышками; элементы эндоплазматического ретикулума немногочисленны. В них свободные рибосомы и тонофибриллы ориентируются вдоль базальной мембраны. Митохондрии мелкие и имеют электронноплотный матрикс.

Структура базальной мембраны покровного эпителия, как правило, не была изменена, в т.ч. в местах транслокации лимфоидных элементов из собственной пластинки слизистой оболочки.

Изменения в эпителии трахеи и бронхов характеризовались выраженной гиперплазией бокаловидных клеток. В них регистрировались расширенные цистерны цитоплазматической сети, густо покрытые рибосомами. Эндоплазматический ретикулум окружен митохондриями. Следует особо отметить, что экструзия гранул мукоидного секрета происходит с вовлечением в этот процесс отторжения части цитоплазмы glanduloцита с фрагментами митохондрий и рибосомами (возможно в этих условиях реализуется механизм голокриновой секреции).

В данных условиях эксперимента отмечено набухание эндотелиоцитов сосудов микроциркуляторного русла, приводящее к сужению гемокapилляров. При этом встречаются контакты между плазмолеммой эндотелиальных клеток и форменными элементами крови с одновременным возрастанием числа пиноцитозных везикул, сосредоточенных в апикальной (адлюминальной) части цитоплазмы.

Таким образом, в стенках внутрилегочных бронхов развивались явления катарально-склеротического бронхита. На фоне локальных деструктивных процессов в соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки развивается грануляционная ткань с обилием вновь образованных сосудов микроциркуляции (артериол, капилляров). Описанные изменения в стенках бронхов носят, как правило, мозаичный характер. Их интенсивность возрастает по мере уменьшения диаметра бронхов, достигая максимума в бронхиолах.

Особенно выраженные структурные перестройки слизистой оболочки бронхов отмечены в серии опытов с интратрахеальным введением *S. aureus* с антилактоферриновой активностью. В данных участках слизистой оболочки покровный эпителий уплощен, уменьшено число рядов эпителиоцитов, встречаются зоны метаплазии эпителия в многослойный плоский или зоны атрофии.

В данных условиях мы наблюдали различные морфологические варианты обструктивного бронхита (катаральный, катарально-склеротический, гранулирующий) с тенденцией к хронизации воспалительного процесса.

В стенке бронхов развиваются отек, плазморрагия, геморрагии, значительно возрастает число лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов, гранулоцитов, тучных клеток. Воспалительные изменения локализуются в основном в подэпителиальной зоне, вокруг концевых отделов и выводных протоков бронхиальных желез. Инфильтраты, весьма крупных размеров, содержат лимфоциты, а также единичные эозинофилы, полиморфноядерные лейкоциты, макрофаги.

При присоединении гнойного воспаления в инфильтратах, лимфоидных фолликулах, преобладают полиморфноядерные лейкоциты. Стенка бронхиол в ряде случаев подвергается гнойному расплавлению.

Таблица 1. Показатели иммуноцитохимических исследований гистоструктур внутри- и внелегочных бронхов крыс в условиях инфицирования бактериями с различными персистентными свойствами: А – с антилактоферриновой активностью, Б - без антилактоферриновой активности

	А			Б		
	Эпителий	Перибронхиальная соединительная ткань	Лимфоидные фолликулы	Эпителий	Перибронхиальная соединительная ткань	Лимфоидные фолликулы
Экспрессия синтеза протеина p53 (%)	–	1,2±0,01*	3,7±0,05*	13,1±0,05*	7,2±0,01*	28,1±0,08*
Экспрессии синтеза протеина bcl2 (%)	–	–	1,8±0,01*	–	5,9±0,04*	8,4±0,07*

Примечания: Окуляр-вставка 0,25 мм<sup>2</sup>, об. 40, ок. 10; \* – различия между группами значимы при p≤0,05

По мере прогрессирования воспалительного процесса в стенке внутрилегочных бронхов, в их просвете накапливается значительное количество слизистого и/или слизисто-гнойного содержимого, что усугубляет обструкцию бронхов.

В отдаленные сроки регистрируются морфологические признаки развития тяжелых форм бронхита, с тенденцией к его хронизации.

Продуктивное воспаление, особенно в мелких бронхах, приводит в итоге к метаболической трансформации эпителия и облитерации просветов бронхов, что в своей совокупности может привести к развитию необратимой обструкции воздухоносных путей.

Изучение бронхиальной стенки сквозь призму иммуноцитохимических исследований позволило установить выраженную активизацию апоптотической доминанты в клетках эпителиального пласта, подэпителиальной соединительной и лимфоидной ткани в данной серии

опытов по сравнению с инфицированием штаммами без персистентного потенциала (табл. 1).

Таким образом, в данных условиях эксперимента мы получили факты, свидетельствующие о формировании у животных выраженной тенденции к хронизации воспалительного процесса. Это заключение базируется на том, что в бронхах регистрируется развитие грануляционной ткани, трансформация эпителия в многослойный плоский, появление полиповидных выростов.

В своей совокупности, полученные нами результаты экспериментально-гистологического исследования позволяют сделать следующее заключение. Интратрахеальное введение бактерий с антилактоферриновой активностью усугубляет течение воспалительного процесса в стенке внутрилегочных бронхов разного калибра. При этом развивается морфологическая картина острого бронхита с тенденцией к его хронизации.

1.10.2011

**Список литературы:**

1. Бухарин, О.В. Персистенция патогенных бактерий / О.В. Бухарин. – М.: Медицина, 1999. – 367 с.
2. Вальшев, А.В. Роль антилактоферриновой активности бактерий в их персистенции / А.В. Вальшев, И.В. Вальшева // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. – 2006. – № 4. – С. 23 – 25.
3. Козлова, А.Н. Морфофункциональная характеристика клеточных элементов трахеобронхиальной системы при взаимодействии дестабилизирующих факторов // Морфология. – 2002. – Т. 121. - № 2/3. – С. 74 – 75.
4. Стадников, А.А. Роль гипоталамических нейропептидов во взаимодействиях про- и эукариот. Структурно-функциональные аспекты / А.А. Стадников. – Екатеринбург: УрО РАН, 2001 – 244 с.
5. Целуйко, С.С. Экологическая патоморфология легких и криопротекторы в условиях Севера / С.С. Целуйко, В.А. Доровских // Эколого-физиологические проблемы адаптации. - М., 1994. – С.289 - 299.

Сведения об авторах:

**Безносик Р.В.**, начальник филиала №1 ФГУ «3-й Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского»

**Вахитов Э.М.**, ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «ОрГМА Минздравсоцразвития», кандидат медицинских наук, e-mail: tripura@mail.ru

**Козлова А.Н.**, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «ОрГМА Минздравсоцразвития», кандидат медицинских наук

**Лабути И.В.**, ассистент кафедры фтизиопульмонологии  
ГБОУ ВПО «ОрГМА Минздравсоцразвития», кандидат медицинских наук  
**Шевлюк Н.Н.**, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии  
ГБОУ ВПО «ОрГМА Минздравсоцразвития», доктор биологических наук  
460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6, тел.: (3532)772275

**UDC 611.814.3+1/-018.82**

**Kozlova A.N., Vakhitov E.M., Beznosik R.V., Shevlyuk N.N., Labutin I.V.**  
**MORPHOFUNCTIONAL REORGANIZATION OF EPITHELIUM OF RATS IN THEIR AERIFEROUS WAYS BY  
INTRATRAHEA BACTERIAL INFECTION WITH BACTERIA OF ANTILACTOFERRINE ACTIVITY**

The infection of animals by bacteria without antilaktoferrine activity shows the morphological picture catarrhal bronchitis with an adequate increase in the cellular elements of mucociliary clearance and immune system to eliminate the parasite. Infection of rats highly persistent strain led to the development of sclerotic forms of bronchitis with a tendency towards chronic diseases of pathological process.

Key words: persistent properties of bacteria, antilactoferrine activity, aeriferous epithelium

**Bibliography:**

1. Bukharin, O.V. Persistence of pathogenic bacteria / O.V. Bukharin. - Moscow: Meditsina, 1999. – 367p.
2. Valyshev, A.V. The role of bacteria antilactoferrinic activity in their persistence / A.V. Valyshev, I.V. Valysheva // Microbiology., Epidemiology. and Immunol. - 2006. - № 4. - P. 23 - 25.
3. Kozlova, A.N. Morphofunctional characteristics of cellular elements of the tracheobronchial system in the interaction of destabilizing factors / / Morphology. - 2002. - V. 121. - № 2 / 3. - P. 74 - 75.
4. Stadnikov, A.A. The role of hypothalamic neuropeptides in the interactions of pro-and eukaryotes. Structural and functional aspects / A.A. Stadnikov. - Ekaterinburg: Ural Branch of RAS, 2001 - 244 p.
5. Tseluyko, S.S. Environmental pathomorphology of the lungs and cryoprotectants in the North / S.S. Tseluyko, V.A. Dorovskikh // Ecological and physiological problems of adaptation. - M., 1994. - P.289 - 299.