

На правах рукописи

ПОЛЬЩА
Наталья Геннадьевна

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНГАЛЯЦИОННОГО
КОРТИКОСТЕРОИДА БУДЕСОНИДА ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ
АСТМЕ ПО ДАННЫМ ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ
СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ БРОНХОВ И ИНДУЦИРОВАННОЙ
МОКРОТЫ

14.00.43.- Пульмонология
03.00.25.- Гистология, цитология, клеточная биология.

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2004

Работа выполнена в ГОУ ВПО Сибирском государственном медицинском университете Минздрава России

Научный руководитель:
профессор

доктор медицинских наук,
Волкова Людмила Ивановна

Научный консультант:

кандидат медицинских наук,
доцент Плешко Раиса Ивановна

Официальные оппоненты:
профессор

доктор медицинских наук,
Бодрова Тамара Николаевна

кандидат медицинских наук,
Фомина Татьяна Ивановна

Ведущая организация: Московский НИИ пульмонологии МЗ РФ

Защита состоится «___» _____ 2004 года на заседании диссертационного совета Д 208.096.02 в Сибирском государственном медицинском университете (634050, г. Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «___» _____ 2004 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Тюкалова Л.И.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. В течение последнего столетия бронхиальная астма (БА) из редко наблюдаемой в клинической практике болезни стала одной из самых распространенных (GINA, 2002.) Причем распространенность заболевания неуклонно возрастает. Несвоевременная диагностика и лечение, недоучет возможностей базисной терапии ведут к прогрессированию заболевания, развитию осложнений, что ухудшает качество жизни, ведет к ранней инвалидизации, сокращает сроки жизни, увеличивает экономическое бремя астмы. Сегодня астма представляет серьезную социальную, экономическую и чисто медицинскую проблему.

По современным представлениям бронхиальная астма характеризуется как хроническое персистирующее воспаление слизистой оболочки бронхов, вследствие которого развивается выраженная перестройка их морфологической структуры (ремоделирование) [Чучалин А.Г., 1997; GINA, 2002]. Ее выраженность, вероятно, зависит от длительности заболевания [GINA, 2002]. Однако в литературе фактически отсутствуют данные о структурной перестройке бронхов в зависимости от срока болезни. Косвенно о степени воспалительного процесса в бронхах можно судить по выраженности клинических симптомов, уровню эозинофилов крови и признаков их активности, а также выдыхаемого оксида азота. Прямая оценка активности процесса, а также его динамики на фоне лечения, может осуществляться только при помощи исследования бронхиальных смывов, браш-биоптатов и биоптатов, изучение которых является «золотым стандартом» относительно других методов [Cox A., 1991; Chung K., 1992; Laitinen L., 1994; Jeffery P., 1997]. Однако, инвазивность вышеперечисленных методов ограничивает их широкое применение в клинической практике, и особенно повторение в динамике, что необходимо для контроля за лечением. В последнее время все больший интерес представляет цитологическое исследование индуцированной мокроты, являющееся легковыполнимым и безопасным для больного. На сегодняшний день мало изучено, насколько она информативна и как сопоставляется с браш-биоптатами и биоптатами слизистой оболочки бронхов [Авдеев С.Н., 1998; Holz O., 2000; Kips J., 2001; Jayaram L., 2001]. Всеми авторами подчеркивается первоочередная важность решения этих вопросов.

Представления о сущности поражения бронхов при астме послужили основанием для разработки базисной терапии БА противовоспалительными средствами. С этой целью используются, в первую очередь, кортикостероиды - системные и ингаляционные, дозы и сроки назначения, которых определяются степенью тяжести БА. Непрямая оценка эффективности противовоспалительной терапии включает в себя контроль за симптомами астмы, потребностью в β_2 -агонистах короткого действия, функцией внешнего дыхания, и таких исследований достаточно много [Barnes P., 1994; Кахновский И.М., 1999; Дмитриев Ю.К., 2000; Лещенко И.В., 2000; Цой А.Н., 2001; и др.]. Они показали, что ингаляционные кортикостероиды оказывают выраженный клинический эффект, который наступает через 2-3 месяца терапии. В то же время известно, что воспалительный процесс в бронхах, лежащий в основе

клинической симптоматики, сохраняется более длительное время. В этой связи важно установить противовоспалительный эффект ИКС по данным исследования цитоморфологической картины слизистой оболочки бронхов для определения оптимальных сроков лечения. Таких исследований немного, и результаты их неоднозначны. Это объясняется, по-видимому, малочисленностью исследованных групп больных и короткими сроками лечения [Jeffery P.,1992; Busse W.,1994]. Практически отсутствуют работы по изучению эффективности ИКС при длительных сроках лечения. На сегодняшний день неясно, насколько при позднем их назначении снижаются результаты терапии и прогрессирует структурная перестройка бронхов [Цой А.Н.,2001; Kips .,2000; Pare P., GINA, 2002]. Предметом обсуждения являются вопросы взаимозаменяемости ИКС, а также взаимозаменяемости одного и того и того же препарата, имеющего разные лекарственные формы - аэрозоль, пудра (E. van Yeizen; Цой А.Н., 2000; GINA, 2002 и др.)

Решение всех этих вопросов требует дальнейших исследований.

Цель исследования: Изучить эффективность ингаляционного кортикостероида будесонида при бронхиальной астме путем комплексной оценки клинической, цитоморфологической картины слизистой оболочки бронхов и клеточного состава индуцированной мокроты.

Задачи исследования:

1. Путем сравнения цитоморфологии слизистой оболочки бронхов и клеточного состава индуцированной мокроты установить, в какой степени последняя отражает воспаление бронхов при бронхиальной астме.

2. Оценить цитоморфологическую картину слизистой оболочки бронхов и клеточный состав индуцированной мокроты при бронхиальной астме в зависимости от ее длительности.

3. Изучить характер цитологических и морфологических изменений в слизистой оболочке бронхов под влиянием будесонида через 6 и 12 месяцев, и клеточного состава индуцированной мокроты через 3, 6 и 12 месяцев в зависимости от формы бронхиальной астмы, ее длительности и лекарственной формы препарата.

Научная новизна: Впервые изучена сопоставимость клеточного состава бронхиальных браш-биоптатов, биоптатов и индуцированной мокроты, и показана высокая информативность последней в оценке воспаления бронхов и его динамики при бронхиальной астме.

Впервые дана комплексная оценка состояния слизистой бронхов по данным исследования бронхобиоптатов, браш-биоптатов и индуцированной мокроты при бронхиальной астме в зависимости от длительности заболевания.

Впервые проведена комплексная оценка эффективности длительной терапии будесонидом (клиника, индуцированная мокрота, браш-биопсия, биопсия) в зависимости от лекарственной формы препарата, формы бронхиальной астмы и ее длительности.

Практическая значимость работы: Получены данные, свидетельствующие о высокой информативности цитологического исследования индуцированной мокроты в отражении активности воспаления в бронхах и его динамики на фоне лечения будесонидом, что способствует дальнейшему развитию новых неинвазивных методов контроля за бронхиальным воспалением.

Установлено положительное влияние длительного приема будесонида на воспалительный процесс слизистой оболочки бронхов и процессы ее восстановления, зависящие от сроков начала терапии, патогенетической формы заболевания. Это обосновывает необходимость раннего назначения и длительного применения ингаляционных кортикостероидов при астме.

Положения, выносимые на защиту: 1. Клеточный состав индуцированной мокроты при всех формах бронхиальной астмы характеризуется высоким содержанием эозинофилов и пониженным числом альвеолярных макрофагов по сравнению со здоровыми. По сравнению с бронхиальными браш- и бронхобиоптатами она содержит большее число эозинофилов, нейтрофилов и макрофагов. При этом имеются положительные корреляции между клетками индуцированной мокроты и браш-биоптатов. Результаты всех трех использованных методов исследования отражают особенности воспалительного процесса при астме.

2. Степень патологических изменений в слизистой оболочке бронхиального дерева зависит от длительности астмы, и характеризуется достоверным нарастанием числа бокаловидных клеток, высоты эпителия, количества фибробластов, реснитчатых эпителиоцитов с признаками дистрофии и атрофии и уменьшением эпителиоцитов нормального строения. Максимальные изменения выявлены у пациентов с длительностью болезни свыше 20 лет.

3. Под влиянием ингаляционного кортикостероида будесонида при бронхиальной астме наблюдается выраженная положительная цитоморфологическая динамика, свидетельствующая о снижении активности воспаления и процессах восстановления структуры слизистой оболочки бронхов. Это выражается в снижении числа эозинофилов, лимфоцитов, высоты эпителиального пласта, изменении соотношения бокаловидных и реснитчатых клеток в сторону увеличения последних, уменьшении толщины базальной мембраны, числа миофибробластов, фибробластов стромы, резервных клеток, реснитчатых эпителиоцитов с признаками дистрофии, атрофии, плоскоклеточной метаплазии, увеличении пролиферирующих клеток и макрофагов. При этом инфекционно-зависимая астма отличается замедленной положительной

динамикой по сравнению с атопической. У пациентов с длительностью болезни свыше 11 лет на фоне лечения положительная динамика всех показателей наступает лишь спустя год терапии в сравнении с пациентами с коротким сроком заболевания, у которых подобный результат достигается за 6 месяцев лечения.

4. Оценка эффективности двух лекарственных форм будесонида (пудра, аэрозоль) показала, что динамика клинических и цитоморфологических показателей при их применении одинакова, что свидетельствует о их взаимозаменяемости.

Внедрение в практику. Результаты исследования используются в работе пульмонологического отделения городской больницы №3 г. Томска. Данные диссертационной работы используются в учебном процессе при преподавании внутренних болезней на педиатрическом факультете СибГМУ и в Томском военно-медицинском институте.

Апробация работы: Материалы диссертации доложены на Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (2001г., Россия, г. Москва), Европейском респираторном конгрессе (2002 г., Швеция, г. Стокгольм), Европейском респираторном конгрессе (2003 г., Австрия, г. Вена), представлены на III и IV Международных конгрессах молодых ученых «Науки о человеке» (Томск, 2002 г., 2003 г.). Диссертация апробирована на заседании кафедры внутренних болезней педиатрического факультета (Томск, 2003 г.) и проблемной комиссии по пульмонологии СибГМУ (Томск, 2003 г.)

По результатам работы опубликовано 7 печатных работ.

Объем и структура диссертации: диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, содержит 38 таблиц, 4 рисунка, состоит из введения и следующих разделов: обзор литературы, материал и методы исследования, три главы результатов собственных исследований, обсуждение, выводы и практические рекомендации. Библиографический указатель содержит 55 отечественных и 126 зарубежных источников. Диссертация изложена на русском языке.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 100 человек, из них 82 пациента с БА легкой и средней степенью тяжести (44 женщины и 38 мужчин) в возрасте от 17 до 64 лет, и 18 здоровых волонтеров (4 женщин, 14 мужчин) в возрасте от 18 до 27 лет. Больные находились на стационарном лечении в пульмонологическом отделении городской больницы № 3 города Томска.

Диагноз бронхиальной астмы основывался на жалобах на характерные приступы экспираторного удушья, истории развития заболевания и жизни, где учитывались аллергологический анамнез и наличие положительных результатов кожных тестов с бытовыми, эпидермальными и пыльцевыми

аллергенами и данных лабораторных и инструментальных методов исследования [Чучалин А.Г., 1997; GINA, 2002]. Формулировка диагноза осуществлялась с использованием Международной статистической классификации болезней [МКБ-10]. Выделялись следующие формы БА: atopическая (экзогенная, аллергическая), инфекционно-зависимая (эндогенная, неатопическая) и смешанная (сочетание). Степень тяжести определялась согласно критериям, представленным в GINA. Разделение больных по степени и формам БА представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение больных по форме и степени тяжести БА

Форма	Степень тяжести	
	легкая	средняя
АБА	32	8
СБА	14	16
ИЗБА	2	10
Всего	48	34

Основные методы исследования: клинико-функциональное исследование больных, эндобронхиальная биопсия с морфометрией биоптатов и браш-биопсия с подсчетом цитогрaмм браш-биоптатов, получение индуцированной мокроты и подсчет цитогрaмм мазков мокроты

В течение всего периода наблюдения больными велись специальные дневники, в которых фиксировалась частота приступов удушья, кратность применения β_2 -агонистов короткого действия, утренние и вечерние показатели пикфлоуметрии. Для измерения пиковой скорости выдоха использовались индивидуальные пикфлоуметры (Clean фирмы «Jaeger», Германия. Вычислялось процентное соотношение ПСВ к должной и вариабельность ПСВ в течение суток и одной недели.

Исследование функции внешнего дыхания проводилось путем анализа кривой «поток-объем» и показателей спирометрии с использованием программного обеспечения SpiroVision II Spirometry System, USA. Вычислялись должные показатели, из которых анализировались: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) и индекс Тиффно.

Забор материала для браш- и бронхобиопсии проводился во время бронхофиброскопии (БФС), которая повторялась в динамике с добровольного согласия пациентов. Исследование осуществлялось в условиях бронхологического кабинета, в утренние часы и натощак [Лукомский Г.И., 1992; Dukanovich R, 1992]. Для БФС использовался фибробронхоскоп BF-P20D (Olympus, Япония).

Бронхиальная браш-биопсия проводилась при помощи стерильной нейлоновой щеточки, которой осуществлялось несколько последовательных движений в намеченной зоне слизистой [Riise G., 1996, 2000]. Полученный материал наносился на предметные стекла в виде тонких мазков. Препараты

фиксируются раствором метанола и окрашивались по Романовскому-Гимзе. Просмотр готовых препаратов проводился под иммерсией с использованием светооптического микроскопа «Биолам Ломо». Для оценки бронхиального эпителия подсчитывали 500 клеток, куда входили реснитчатые эпителиоциты нормального строения, с признаками атрофии, дистрофии, пролиферации, резервные, бокаловидные и метаплазированные плоскоэпителиальные клетки. Дополнительно подсчитывали 100 клеток неэпителиального происхождения, условно названных клетками сопровождения, куда входили эозинофилы, нейтрофилы, альвеолярные макрофаги, лимфоциты и плазматические клетки. Цитограмма браш-биоптата выражалась в процентах.

Забор биопсийного материала осуществляли после получения браш-биопсии из слизистой оболочки главных бронхов или из среднедолевого бронха с помощью бронхоскопических щипцов. При повторных БФС материал получали в тех же участках бронхов. Фрагменты ткани бронхов фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин [Меркулов Г.А., 1969]. Затем изготавливали парафиновые блоки, из них готовили срезы толщиной 5-7 мкм. Для проведения обзорной микроскопии слизистой бронхов препараты окрашивали гематоксилином-эозином, для оценки волокнистых структур соединительной ткани – пикрофуксином и фукселином по Ван-Гизону. Затем проводилась количественная и морфометрическая оценка бронхобиоптатов. Для этого изображения биоптатов с помощью цифровой видеокамеры, присоединенной к микроскопу, вносились в память IBM совместимого компьютера. Подсчет морфометрических показателей проводился в графическом редакторе Adobe PhotoShop 5.0. Цитологический состав оценивался путем количественного подсчета клеток на 1 мм².

Индукцированную мокроту получали у здоровых и больных после ингаляций стерильного 3, 4, 5 - % раствора NaCl через небулайзер. Мокрота подвергалась лабораторной обработке не позднее чем через 2 часа после ее получения. Из полученного осадка готовились мазки в количестве 3-4 от одного больного. Проводился дифференцированный подсчет 400 клеток, среди которых учитывались эозинофилы, нейтрофилы, альвеолярные макрофаги, лимфоциты и плазматические клетки. Примесь плоского эпителия, имеющего происхождение из ротовой полости, у больных БА не превышала 20% от общего числа клеток. Полученные результаты выражались как в абсолютных цифрах (количество клеток $\times 10^6$ в мл), так и в процентах [Авдеев С.Н., 1998; Kips J., 1998; Kips J., 2000; Jayaram L., 2000].

Статистическую обработку полученных результатов проводили путем создания электронной базы данных в Microsoft Excel 2000 с использованием прикладных программ STATISTICA 5.0. FOR WINDOWS. Для оценки значимости различий показателей для согласованных групп использовался непараметрический критерий Вилкоксона, для несогласованных – Манна-Уитни. Корреляцию признаков оценивали с помощью коэффициента корреляции рангов по Спирману. Вероятность различий в группах считали статистически значимой при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Сравнение клеточного состава индуцированной мокроты (ИМ), браш-биоптатов и биоптатов у больных бронхиальной астмой.

При сравнении цитологического состава ИМ здоровых и больных БА были выявлены достоверно большие средние величины цитоза и эозинофилов у последних, которые составили $1,79 \pm 0,11 \times 10^6/\text{мл}$ и $28,2 \pm 3,32\%$ соответственно. У здоровых эти показатели равнялись соответственно $1,21 \pm 0,23 \times 10^6/\text{мл}$ и $1,31 \pm 0,17\%$. Содержание альвеолярных макрофагов у больных ($42,08 \pm 4,5\%$) было достоверно ниже, чем у здоровых ($63,75 \pm 7,16$). Различий по количеству нейтрофилов и лимфоцитов в ИМ между больными БА и здоровыми выявлено не было. Вышеописанные закономерности отмечались и при сравнении ИМ здоровых и больных БА разных форм. Таким образом, состав ИМ при всех формах БА существенно отличается от такового у здоровых. Высокий цитоз и повышенное количество эозинофилов отражает наличие эозинофильного воспаления в бронхах. Более низкое количество макрофагов у больных БА свидетельствует о снижении резистентности слизистой оболочки.

Сравнение клеточного состава ИМ и бронхиальных у больных БА биоптатов проводилось по процентному содержанию межэпителиально расположенных эозинофилов, лимфоцитов, нейтрофилов и макрофагов (табл 2). Анализ показал, что между ними имелись достоверные различия по содержанию всех клеток. В отличие от ИМ среди межэпителиальных клеток в бронхобиоптатах преобладали лимфоциты. Количество эозинофилов, нейтрофилов и альвеолярных макрофагов было выше в ИМ. Достоверные различия между составом ИМ и бронхобиоптатов в целом сохранялись при всех формах БА, однако при ИЗБА разница по количеству эозинофилов не была статистически достоверной.

Цитограммы браш-биоптатов отличались от таковых ИМ высоким содержанием эпителиоцитов, которые в ИМ встречались редко, поэтому проводилось сравнение только процентного состава клеток сопровождения (табл 2). Анализ показал, что имеются достоверные различия между ИМ и браш-биоптатами при БА по процентному содержанию всех клеток. ИМ отличало более высокое содержание эозинофилов, макрофагов и нейтрофилов. При сравнении процентного содержания клеток в ИМ и браш-биоптатах при разных формах заболевания наблюдалась подобная картина, за исключением АБА, при которой не было достоверной разницы между ИМ и браш-биоптатами по числу эозинофилов.

Таким образом, клеточный состав ИМ бронхобиоптатов и браш-биоптатов при БА значительно различается по количеству клеток, участвующих в воспалении. Вместе с тем во всех исследуемых материалах их процент повышен, и все они отражают наличие воспалительного процесса при астме. Проведенный корреляционный анализ показал наличие прямых взаимосвязей между клетками ИМ и браш-биоптатов, а именно: эозинофилами ($r = 0,40$, $p < 0,05$), альвеолярными макрофагами ($r = 0,37$, $p < 0,01$) и нейтрофилами ($r = 0,34$, $p < 0,05$), что демонстрирует однонаправленность

изменений в них при БА. Кроме того, были обнаружены отрицательная корреляция между уровнем цитоза ИМ и РЭНС в браш-биоптатах ($r = -0,49$, $p < 0,05$) и положительная между ним же и процентом БК в браш-биоптатах ($r = 0,47$, $p < 0,05$). Это подтверждает роль воспаления в повреждении реснитчатых клеток слизистой при астме и отражает связанные с этим воспалением признаки гиперсекреции.

Таблица 2

Клеточный состав индуцированной мокроты, браш-биоптатов и внутриэпителиального инфильтрата бронхиоптатов при БА ($X \pm x$)

Показатели (%)	ИМ n=22	Биоптаты n=22	Браш-биоптаты n=22
Эозинофилы	28,2±3,32*♦	19,94±2,63	21,59±2,17
Нейтрофилы	24,48±3,55**♦♦♦	7,52±0,62	9,9±1,62
Макрофаги	42,08±4,5**♦	23,17±2,6	35,49±2,89
Лимфоциты	5,24±0,63***♦♦♦	49,37±5,3	33,02±2,54

*- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ - достоверные различия при сравнении ИМ и бронхиоптатов

♦- $p < 0,05$, ♦♦ - $p < 0,01$, ♦♦♦- $p < 0,001$ - достоверные различия при сравнении ИМ и браш - биоптатов

2. Характеристика цитоморфологической картины слизистой оболочки бронхов при бронхиальной астме в зависимости от длительности заболевания. Для изучения особенностей цитоморфологического статуса при астме 67 больных БА были разделены на 5 групп в зависимости от стажа заболевания. Первую (I) группу составили пациенты со стажем заболевания до 2 лет ($n=19$), вторую (II) – с длительностью болезни от 3 до 5 лет ($n=16$). 17 больных, вошедших в третью группу (III), страдали БА от 6 до 10 лет, в четвертой группе (IV) находились пациенты со сроком болезни от 11 до 20 лет ($n=9$), а в пятой (V) – свыше 21 года ($n=6$).

Исследование бронхиоптатов показало отсутствие достоверных различий между группами по содержанию межэпителиальных лимфоцитов (МЭЛФ), эозинофилов (МЭЭФ), а также по толщине базальной мембраны, клеточной плотности инфильтрата (КПИ) и таких клеток в строме, как лимфоциты (ЛФ), эозинофилы (ЭФ), моноциты (МН) и (ПЦ). Отличия по соотношению бокаловидных клеток к реснитчатым возникали уже при сравнении I и II групп, а, начиная с III группы к ним присоединялись число ФБ и высота эпителиального пласта, и эти изменения сохранялись при сравнении с IV и V группами. Число НФ собственной пластинки постепенно увеличивалось в зависимости от длительности заболевания, но достоверные различия были зафиксированы только между больными I и V групп. Наибольшее количество

отличий по морфологической картине слизистой бронхов найдены между I и V группами, и касались они количества нейтрофилов, фибробластов, а также соотношения бокаловидных клеток с реснитчатыми и высоты эпителия, которые были выше у пациентов V группы. Такие же изменения обнаружены и при сравнении II и V групп, однако в этом случае не было достоверной разницы по высоте эпителия. Отличия между III и V группами касались только соотношения бокаловидных и реснитчатых клеток. Подобные изменения обнаружены и при сравнении IV и V групп больных. Корреляционный анализ выявил наличие положительных взаимосвязей между длительностью заболевания и ФБ ($r=0,55, p<0,05$), высотой эпителия ($r = 0,43, p<0,05$). Отрицательные взаимосвязи обнаружены между стажем заболевания и соотношением бокаловидных клеток к реснитчатым ($r = - 0,67, p<0,05$).

Таким образом, в процессе развития заболевания, в морфологической структуре бронхов происходит ряд изменений, которые касаются увеличения бокаловидных клеток (БК), ФБ, высоты эпителия и числа НФ. По-видимому, они отражают нарастание гиперсекреции слизистой оболочкой бронхов, развитие фиброза. Результаты корреляционного анализа подтверждают наличие связи между элементами морфологической структуры и стажем заболевания. В целом, вышеописанные изменения характеризуют постепенное прогрессирование процессов ремоделирования – характерной перестройки морфологической структуры бронхов при астме, и представляются важными для практики, так как дают обоснование для раннего назначения противовоспалительной терапии.

Анализ цитогрaмм браш-биоптатов показал отсутствие достоверных различий между группами по содержанию реснитчатых эпителиоцитов с признаками пролиферации (РЭПП), метаплазированных плоскоэпителиальных клеток (МПЭК), резервных клеток (РК), а также ЭФ и ЛФ. Достоверные различия имели место по содержанию РЭНС и БК, они наблюдались при сравнении I группы больных с III, IV и V, при этом число первых становилось ниже, а вторых – выше. При сравнении I группы с IV и V найдены достоверные различия по количеству РЭПД, РЭПА, количество которых в двух последних группах было выше, и МФ, чей процент у них был ниже. Наибольшие различия были зафиксированы между больными I и V групп, и касались они числа реснитчатых эпителиоцитов нормального строения (РЭНС), бокаловидных клеток (БК), а также реснитчатых эпителиоцитов с признаками дистрофии (РЭПД), атрофии (РЭПА), НФ и МФ. Корреляционный анализ показал наличие прямых взаимосвязей между длительностью заболевания и: процентом БК ($r = 0,7, p<0,01$), РЭПА ($r = 0,19, p<0,05$), ЛФ ($r = 0,25, p<0,01$) и НФ ($r = 0,17, p<0,05$). Обратные отношения выявлены между стажем болезни и уровнем РЭНС ($r = - 0,47, p<0,001$).

Таким образом, цитогрaммы браш-биоптатов при БА при разных сроках заболевания отличаются между собой по числу РЭНС, БК, а также РЭПД, РЭПА, НФ и МФ. Нарастающие со сроком болезни изменения в количестве клеток отражают усугубление процессов дистрофии, атрофии эпителиоцитов и признаков гиперсекреции, угнетение местного иммунитета. Положительная

корреляционная связь длительности заболевания с числом лимфоцитов и нейрофилов, по-видимому, свидетельствует о их роли в прогрессировании при астме.

Анализ результатов сравнения цитограмм ИМ при разных сроках БА показал, что достоверные различия между группами имелись лишь по содержанию НФ. Возникали они уже при сравнении I группы с III. Максимальные различия по числу НФ были зафиксированы между больными I и V групп. При изучении взаимосвязей между стажем заболевания и клеточным составом ИМ выявлена положительная слабая корреляция с абсолютным числом ЛФ ($r = 0,34$, $p < 0,05$) и отрицательная с процентом МФ ($r = - 0,36$, $p < 0,05$). Подобные изменения наблюдались и при изучении браш-биоптатов и биоптатов слизистой бронхов, что позволяет говорить об однонаправленности изменений в них.

3. Комплексная оценка эффективности будесонида при лечении бронхиальной астмы.

Комплексная оценка эффективности противовоспалительной терапии препаратами будесонида (Бенакорт, Пульмомед, Россия и Budesonid Forte, GlaxoSmithKline, Великобритания) проводилась у 31 пациента с БА легкой и средней степенью тяжести (I группа). Среди них было 16 женщин и 15 мужчин в возрасте от 18 до 64 лет (средний $39,88 \pm 3,26$), с продолжительностью заболевания от 1 до 25 лет (в среднем $7,54 \pm 1,63$ года). Группу сравнения (II) составили 10 больных БА (3 женщины и 7 мужчин) от 18 до 49 лет (средний – $24,75 \pm 3,98$), с длительностью болезни от 1 до 15 лет (в среднем $6,3 \pm 2,58$ года), не получавших противовоспалительной терапии. В эту группу входили преимущественно пациенты с легкой интермиттирующей астмой, которым базисные средства не показаны в соответствии с рекомендациями GINA-1, 2, и с легкой персистирующей астмой, отказавшихся от лечения в связи с нежеланием принимать гормональные препараты. Один пациент со средней степенью тяжести отказался от приема будесонида по той же причине. Распределение пациентов по форме и степени тяжести приведено в таблице 3.

Группы были сопоставимы по всем показателям цитоморфологических методов исследования. Никто из пациентов до включения в исследование не применял системных и ингаляционных кортикостероидов. Дизайн исследования – открытое рандомизированное исследование. Препараты будесонида назначались в суточной дозе 400-1000 мкг в зависимости от степени тяжести заболевания. Пациенты, принимающие бенакорт (порошковая форма будесонида), были выделены в подгруппу Ia ($n = 17$), а получающие будесонид-форте (аэрозольная форма) – в Ib ($n = 17$). Оценка эффективности лечения включала в себя контроль за клинико-функциональными параметрами, которые фиксировались через 3, 6 и 12 месяцев от начала терапии, и цитоморфологическими показателями бронхиальных браш-биоптатов и биоптатов, которые изучались через 6 и 12 месяцев. Кроме того, через 3, 6 и 12 месяцев осуществлялся контроль клеточного состава ИМ.

Таблица 3

Распределение больных I и II групп по формам и степеням тяжести БА

Группа		Форма	Степень тяжести	
			легкая	средняя
I	Ia (n=17)	АБА (n=6)	5	1
		СБА (n=7)	3	4
		ИЗБА (n=4)	0	4
	Iб (n=14)	АБА (n=6)	5	1
		СБА (n=5)	1	4
		ИЗБА (n=3)	0	3
II (n=10)		АБА	7	0
		СБА	2	1

Все больные исходно предъявляли жалобы на возникающие с определенной частотой, в зависимости от степени тяжести БА, приступы экспираторного удушья, сопровождающиеся дистанционными хрипами либо эпизодами приступообразного кашля. У пациентов со средней степенью тяжести обнаруживалось снижение показателей ПСВ, ОФВ₁, ФЖЕЛ и индекса Тиффно, отмечалась высокая вариабельность ПСВ. При легкой степени течения астмы чаще имел место только большой разброс ПСВ. При аускультации легких выслушивались рассеянные сухие свистящие хрипы. На фоне приема будесонида у пациентов основной группы уже через 3 месяца лечения произошло достоверное уменьшение числа приступов удушья, кратности использования β_2 -агонистов, увеличения ПСВ при снижении ее вариабельности, нарастание значений ОФВ₁, ФЖЕЛ и индекса Тиффно. Через год примерно в 10 раз снизилось количество приступов удушья и кратность применения β_2 -агонистов, в 3 раза уменьшилась вариабельность ПСВ. Показатели у пациентов группы сравнения также подверглись положительной динамике, значительно менее выраженной, чем у пациентов основной группы, связанной, по-видимому, с некоторым естественным затуханием обострения заболевания.

Анализ динамики клинико-функциональных параметров у пациентов, получавших препараты будесонида, имеющих разные лекарственные формы, что предполагает различия их фармакологии и эффективности, показал, что достоверные различия на фоне лечения между подгруппами отсутствовали.

Сравнение клинико-функциональных параметров у больных БА разных форм I группы до назначения терапии, показало, что между АБА и ИЗБА имелись достоверные различия по частоте приступов удушья, кратности

использования β_2 - агонистов, значения которых были выше при ИЗБА, а показатели $ОФВ_1$ при ней были достоверно более низкими. Положительная динамика на фоне лечения у пациентов с АБА опережала таковую при ИЗБА. Через 3 месяца лечения при АБА зафиксировано статистически достоверное уменьшение числа приступов удушья, кратности использования β_2 -агонистов, увеличение ПСВ при снижении ее вариабельности, нарастание значений $ОФВ_1$, индекса Тиффно. Спустя еще 3 месяца к ним присоединилось увеличение показателей ФЖЕЛ. При ИЗБА увеличение утренней ПСВ, снижение ее вариабельности, повышение значений индекса Тиффно обнаружены только через 6 месяцев терапии. У пациентов с СБА сроки улучшения показателей в целом совпадали с таковыми при АБА.

Цитограммы браш-биоптатов больных I и II групп исходно достоверно не различались ни по одному из показателей (табл.4, 5). В препаратах больных основной группы уже через 6 месяцев терапии было выявлено достоверное увеличение процента РЭНС, и он продолжал увеличиваться через 12 месяцев (табл.4, 5). Подобные изменения также касались числа РЭПП. Снижение уровней БК, РЭПА, МПЭК и РК также зафиксировано через 6 месяцев лечения, а спустя еще полгода к ним присоединилось уменьшение числа РЭПД. В составе клеток сопровождения через 6 месяцев лечения увеличился процент макрофагов, снизился уровень эозинофилов, лимфоцитов и плазматических клеток, а через год к ним добавилось достоверное уменьшение числа нейтрофилов.

Таблица 4

Динамика цитологического состава эпителиоцитов браш-биоптатов у больных БА I и II групп ($X \pm x$)

Показатели %	Исходно		Через 6 месяцев		Через 12 месяцев	
	I гр n=31	II гр n=10	I гр n=31	II гр n=10	I гр n=29	II гр n=10
РЭНС	65,7±4,8	70,7±4,0	72,2±2,0*	70,8±2,1	78,8±1,6**♦	72,6±2,5
БК	14,1±1,8	11,4±1,5	9,8±1,2**	11,6±1,5	6,6±1,0***♦	10,3±1,6
РЭПД	4,0±0,7	3,5±0,3	3,4±0,5	3,0±0,4	2,1±0,3*♦	2,9±0,3*
РЭПА	3,2±0,3	2,4±0,5	2,6±0,3*	2,5±0,5	1,6±0,3***♦	2,4±0,3
РЭПП	3,7±0,2	3,5±0,2	5,9±0,3***♦	4,4±0,6*	7,4±0,8***♦	4,4±0,8*
МПЭК	5,4±0,5	4,6±0,6	3,2±0,3***♦	4,1±0,6	1,8±0,2***♦	3,9±0,4
РК	3,9±0,3	3,9±0,4	2,9±0,3*	3,6±0,3	1,7±0,2***♦	3,5±0,4

*- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ – достоверность различий при сравнении с исходными значениями показателей

♦ - $p < 0,05$ - достоверность различий между основной группой и группой сравнения на соответствующих контрольных точках

У пациентов группы сравнения имели место лишь незначительные изменения показателей цитограмм (табл.4, 5). Уже через 6 месяцев терапии между группами возникли достоверные различия количеству РЭПП и

макрофагов, которых стало больше у пациентов I группы, и МПЭК, которых у них стало меньше. Спустя год различия касались уже всех показателей. В цитограммах пациентов, получающих будесонид, содержалось достоверно большее число РЭНС, и меньшее – БК, РЭПА, РЭПД, РК, эозинофилов, нейтрофилов, лимфоцитов, плазматических клеток.

Таблица 5

Динамика цитологического состава клеток сопровождения браш-биоптатов у больных БА I и II групп ($X \pm x$)

Показатели %	Исходно		Через 6 месяцев		Через 12 месяцев	
	I гр n=31	II гр n=10	I гр n=31	II гр n=10	I гр n=29	II гр n=10
ЭФ	23,8±2,7	26,2±3,1	15,4±1,9**	18,9±2,2*	8,9±1,4***♦	14,5±2,4*
НФ	9,5±1,05	9,0±1,2	8,1±1,8	9,4±1,3	5,1±0,7*♦	9,4±1,6
МФ	33,6±2,6	32,1±2,2	52,3±2,9***♦	42,5±4,1*	69,2±2,2***♦	48,8±4,9*
ЛФ	31,8±2,5	31,9±2,3	23,7±1,9**	28,6±3,3	16,5±1,7***♦	26,7±4,6
ПЦ	1,3±0,34	0,8±0,0	0,5±0,0***	0,6±0,0	0,3±0,0***♦	0,6±0,0

*- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ – достоверность различий по сравнению с исходным значением

♦ - $p < 0,05$ - достоверность различий между основной группой и группой сравнения на соответствующих контрольных точках

Таким образом, под влиянием будесонида произошли выраженные процессы восстановления нормальной структуры бронхиального эпителия за счет уменьшения их патологических форм, снизился процент бокаловидных клеток, что отражает снижение гиперсекреции слизистой оболочкой бронхов. Кроме того, наблюдалось сокращение процента эозинофилов, лимфоцитов, плазматических клеток, нейтрофилов и возрастание числа макрофагов, что характеризует уменьшение активности воспалительного процесса. В то же время небольшие изменения происходят и у пациентов, не получавших будесонида, совпадающие с некоторым затуханием обострения, однако они являются значительно менее выраженными.

До назначения терапии между Ia и Ib подгруппами больных, получавших разные лекарственные формы будесонида, также не было достоверных различий ни по одному из показателей. На фоне лечения как в той, так и в другой подгруппе в браш-биоптатах произошло достоверное увеличение процента РЭНС, РЭПП, МФ и снижение уровней БК, РЭПА, МПЭК, РК, ЭФ, ЛФ и НФ, что характеризует одинаковую положительную динамику в обеих группах пациентов.

Изучение цитограмм браш-биоптатов в зависимости от формы БА показало, что до назначения терапии при АБА число РЭНС было достоверно большим, чем при ИЗБА, а количество РЭПА, МПЭК и РК достоверно меньшим. Это говорит о более выраженном повреждении эпителиоцитов при инфекционно-зависимой форме заболевания. Процент эозинофилов и лимфоцитов был выше при atopической астме, а нейтрофилов и макрофагов – у

больных с ИЗБА, что подчеркивает роль этих клеток в патогенезе разных форм заболевания. Состав цитограмм при СБА был близок к таковому при АБА. На фоне лечения при всех формах БА в цитологическом составе браш-биоптатов произошли однонаправленные изменения, выражающиеся в увеличении количества РЭНС, РЭПП, МФ и уменьшении числа БК, РЭПА, РЭПД, РК, МПЭК, ЭФ, НФ, ЛФ и ПЦ. Однако динамика этих показателей больных разными формами БА была неодинаковой, и между ними на разных сроках лечения выявлялись достоверные различия, более всего выраженные между АБА и ИЗБА. Спустя 6 месяцев при АБА произошло достоверное изменение практически всех показателей. У больных с ИЗБА на этом сроке наблюдения не было найдено увеличения РЭНС и снижения БК, это отмечено у них только через год. В это же время между АБА и ИЗБА появилась разница по числу БК, которых стало достоверно меньше при атопической астме. Подобных отличий до назначения терапии между данными категориями больных не наблюдалось.

Через 12 месяцев при АБА выявлялось достоверно меньшее число БК, РЭПА и ПЦ чем у пациентов с ИЗБА, чего не было обнаружено до начала терапии будесонидом.

Таким образом, динамика цитологических показателей на фоне лечения будесонидом при разных формах БА по срокам неодинакова, хотя все изменения являются однонаправленными. При АБА процессы регенерации эпителиоцитов, снижение числа бокаловидных и воспалительных клеток начинаются раньше, чем у пациентов с ИЗБА, и протекают более интенсивно. Изменения клеточного состава при СБА приближаются к таковым при АБА. Замедленная положительная динамика у пациентов с ИЗБА, вероятно, обусловлена более глубоким повреждением бронхиального эпителия при этой форме заболевания. Важно подчеркнуть, что эти результаты согласуются с данными клинико-функциональных исследований. Для возникновения положительной динамики при ИЗБА, сравнимой с таковой при АБА и СБА, вероятно, требуется более длительный срок лечения.

Бронхобиоптаты у пациентов обеих групп исходно характеризовались значительной высотой эпителиального пласта и толщиной базальной мембраны, увеличением количества бокаловидных клеток по отношению к реснитчатым (в норме 1: 4), высоким содержанием МЭЛФ и МЭЭФ. Также у всех больных выявлялась высокая плотность клеточного инфильтрата. Как в I, так и во II группах, в строме преобладали фибробласты, моноциты и лимфоциты. Между больными I и II групп не было выявлено достоверных различий ни по одному из параметров (табл. 6).

Уже через 6 месяцев терапии у пациентов основной группы отмечено, а через годросло значительное изменение соотношения бокаловидных и реснитчатых клеток в сторону увеличения последних, уменьшение толщины базальной мембраны, высоты эпителиального пласта, а также снижение числа миофибробластов, МЭЛФ и МЭЭФ. При этом же сроке лечения зафиксировано снижение плотности клеточного инфильтрата, уменьшение в строме количества всех видов клеток. Через год число МЭЭФ уменьшилось в 8 раз, высота

Таблица 6

Динамика морфометрических показателей биоптатов у больных БА I и II групп ($X \pm x$)

Показатели %	Исходно		Через 6 месяцев		Через 12 месяцев	
	I группа n=31	II группа n=10	I группа n=31	II группа n=10	I группа n=29	II группа n=10
Высота эпителия (мкм)	47,7±1,1	47,7±1,3	40,0±1,4*♦	46,0±1,8	29,9±1,4***♦	44,6±1,8
Толщина БМ (мкм)	5,5±0,1	5,4±0,2	4,8±0,2*	5,2±0,2	4,0±0,1***♦	4,9±0,2*
Соотношение реснит:бок	1,75	1,74	1,94*	1,80	3,00***♦	1,85
МЭЛФ/мм ²	404,6±12,5	430,3±34,9	266,8±18,5*♦	377,4±36,4	194,9±13,8***♦	352,2±41,0
МЭЭФ/мм ²	174,7±10,63	197,9±20,5	97,7±9,7*♦	177,1±21,0	20,5±1,8***♦	150,9±16,7*
КПИ/мм ²	4499,9±167	4422,9±193	3204,2±140*♦	3948,0±101*	2092,1±93***♦	3448,8±183*
ЛФ/мм ²	1262,3±47,4	1265,0±73,7	904,0±44,2*♦	1140,0±99*	523,1±19,6***♦	953,7±42,8*
ЭФ/мм ²	168,4±19,8	162,3±22,0	106,4±12,1*♦	143,4±15,6	24,9±2,5***♦	120,0±18,9
НФ/мм ²	18,6±2,2	15,9±2,7	10,3±1,1*	12,4±1,7	1,0±0,0***♦	11,3±1,1
МН/мм ²	1251,8±47,7	1358,7±96,5	864,1±45,6*♦	1198,4±99,0	562,1±27,8♦	1133,1±94,3
ФБ/мм ²	1785,1±83,6	1610,8±199,4	1310,9±88,1*	1445,6±104	977,7±76,3*♦	1223,7±188,0
ПЦ/мм ²	13,7±1,7	10,2±1,8	8,5±1,0*	8,2±1,3	3,3±0,5***♦	7,0±0,9
МФБ /мм ²	11,1±0,8	11,3±1,0	7,3±0,8*♦	10,4±1,1	3,8±0,4***♦	10,2±0,8

*- p<0,05; ***- p<0,001; - достоверность различий по сравнению с исходными значениями

♦ - p<0,05 - достоверность различий между основной группой и группой сравнения

эпителия, количество МЭЛФ - в 2 раза, также в 2 раза увеличилось количество реснитчатых клеток по отношению к бокаловидным. Более чем в 2 раза сократилось число клеток в строме, а содержание плазмочитов снизилось в 4 раза (табл. 6). Только некоторые изменения имели место в бронхобиоптатах группы сравнения, значительно менее выраженные, чем у больных I группы, отражающие, вероятно, некоторое естественное затухание обострения заболевания. Поэтому достоверные различия между I и II группами появились уже после 6 месяцев терапии, а через год они касались уже практически всех показателей.

Таким образом, под влиянием будесонида в морфологической картине слизистой бронхов происходят изменения, характеризующие уменьшение степени воспалительного процесса и частичное восстановление ее структуры.

В подгруппах пациентов, получающих разные препараты будесонида, до назначения лечения исследование бронхобиоптатов показало отсутствие достоверных различий между ними. На фоне терапии в биоптатах происходят однонаправленные изменения. Сроки появления достоверных различий по сравнению с исходными значениями в обеих подгруппах также приблизительно совпадают. Таким образом, в динамике морфометрических показателей не выявлено различий, позволяющих рекомендовать какой-либо из двух препаратов в качестве более предпочтительного. Возможно, фармакологические особенности, связанные с разными формами лекарства, не оказывают существенного влияния на их конечный противовоспалительный эффект.

Изучение клеточного состава бронхобиоптатов при разных формах БА выявило, что до назначения будесонида между ними уже имелся ряд достоверных различий, наибольшие из которых выявлены между АБА и ИЗБА. При АБА обнаружено большее число МЭЭФ, КПИ, ЭФ, МН, ФБ, ЛФ, а при ИЗБА - НФ и плазматических клеток. Больных со СБА отличали от пациентов с АБА более низкая КПИ, и меньшее ЭФ, ЛФ, МН и ФБ, а содержание НФ и ПЦ при ней было достоверно большим.

Под влиянием будесонида при всех формах БА в морфологической картине слизистой оболочки бронхов произошли однонаправленные изменения, однако спустя 6 месяцев наибольшее количество достоверных различий по сравнению с исходными показателями было зафиксировано при АБА и СБА. Минимальное количество изменений на фоне лечения произошло у больных с ИЗБА, и у них не было найдено снижения толщины БМ, числа МФБ, ФБ стромы. На этом сроке лечения между АБА и ИЗБА появилась разница по числу МФБ, а также соотношению бокаловидных и реснитчатых клеток, которые были достоверно меньшими при атопической астме. Этих отличий до назначения лечения между данными категориями больных не наблюдалось. Подобные же изменения зафиксированы и при сравнении динамики показателей пациентов со СБА и ИЗБА.

Через 12 месяцев при АБА и СБА выявлялось достоверно большее количество реснитчатых клеток по отношению к бокаловидным, чем у

пациентов с ИЗБА, чего не было обнаружено до начала терапии будесонидом, что свидетельствует о замедленной положительной динамике при последней.

Таким образом, динамика морфологических показателей на фоне лечения будесонидом при разных формах БА по срокам наступления неодинакова, хотя все изменения являются однонаправленными. При АБА восстановление соотношения бокаловидных и реснитчатых клеток, снижение числа МФБ базальной мембраны с уменьшением ее толщины начинаются раньше, чем у пациентов с ИЗБА, и протекают более интенсивно. Изменения при СБА приблизительно соответствуют таковым при АБА. Замедленная положительная динамика у пациентов с ИЗБА, вероятно, обусловлена более глубоким поражением бронхиального эпителия и усиленным коллагеногенезом фибробластов. Возникновение положительной динамики по этим показателям лишь спустя год после начала терапии свидетельствует о том, что для достижения аналогичных другим формам изменений больным ИЗБА требуется более длительный срок лечения.

Индуцированная мокрота больных I и II групп исходно характеризовалась высоким цитозом, а в ее составе преобладали макрофаги и эозинофилы. По содержанию всех клеток в ИМ пациентов обеих групп не выявлено достоверных различий (табл. 7,8). В цитограммах пациентов основной группы уже спустя 3 месяца было зафиксировано достоверное снижение цитоза. В цитологическом составе значительно уменьшилось среднее количество эозинофилов, лимфоцитов, плазмоцитов, и увеличилось - макрофагов. Через полгода к этому присоединилось снижение нейтрофилов. К концу наблюдения отмечалось уменьшение количества эозинофилов в 9 раз, лимфоцитов в 6 раз, плазмоцитов в 3 раза и увеличение макрофагов на 1,5-2 порядка (табл. 7). У больных, составляющих II группу, имела место лишь небольшая динамика показателей, значительно менее выраженная, чем у пациентов I группы (табл.8). При сравнении цитограмм пациентов I и II групп уже через 3 месяца лечения зафиксированы достоверные отличия между ними по количеству эозинофилов, лимфоцитов, абсолютному числу нейтрофилов и проценту плазмоцитов, которые были ниже у больных, получающих будесонид. Еще через 3 месяца к ним присоединились различия по уровню цитоза, он был ниже также в I группе, и количеству макрофагов, которое у них было достоверно большим. Спустя год различия между группами отмечались по большинству показателей, за исключением уровня нейтрофилов.

Таким образом, на фоне лечения будесонидом уже при 3-месячном сроке лечения в ИМ происходят изменения, характеризующие снижение активности воспалительного процесса в бронхах. Это подтверждает эффективность будесонида и доказывает высокую информативность исследования клеточного состава ИМ в плане отражения бронхиального воспаления при астме.

Сравнение клеточного состава ИМ у пациентов подгрупп Ia и Ib до начала лечения показало также отсутствие между ними достоверных различий. Изучение динамики состава ИМ в зависимости от получаемого препарата

показало, что в обоих случаях изменения имели однонаправленный характер и выражались в снижении средних величин цитоза, эозинофилов, лимфоцитов, плазмоцитов, и увеличении макрофагов. У пациентов, получающих будесонид-форте, в отличие от больных получающих бенакорт, через 3 месяца терапии не обнаружено снижения процента нейтрофилов, однако через 6 месяцев это отличие исчезло. Таким образом, состав ИМ в динамике практически не зависел от получаемого в качестве базисной терапии препарата будесонида.

Таблица 7

Динамика цитологического состава индуцированной мокроты у больных БА I группы на фоне лечения будесонидом ($X \pm x$)

Показатели	До лечения	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
	n=20	n=20	n=18	n=17
Цитоз, $\times 10^6/\text{мл}$	1,75 \pm 0,12	1,40 \pm 0,12**	1,12 \pm 0,08*** \circ	1,00 \pm 0,08*** \circ
ЭФ %	26,00 \pm 3,38	8,15 \pm 0,85* \circ	3,76 \pm 0,28*** \circ	3,12 \pm 0,34*** \circ
НФ %	24,71 \pm 3,78	22,65 \pm 2,89	19,31 \pm 2,11*	16,30 \pm 1,86*
МФ %	42,70 \pm 4,59	67,82 \pm 5,97*	75,64 \pm 3,09** \circ	79,40 \pm 2,65*** \circ
ЛФ %	6,30 \pm 0,65	1,30 \pm 0,21*** \circ	1,19 \pm 0,11*** \circ	1,08 \pm 0,20*** \circ
ПЦ%	0,29 \pm 0,06	0,08 \pm 0,00** \circ	0,10 \pm 0,02**	0,10 \pm 0,01*** \circ

*- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ – достоверность различий по сравнению с исходным значением

\circ – достоверные различия с группой сравнения (II), см. табл.8.

Таблица 8

Динамика цитологического состава индуцированной мокроты у больных БА II группы ($X \pm x$)

Показатели	До лечения	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
	n=10	n=10	n=10	n=10
Цитоз, $\times 10^6/\text{мл}$	1,63 \pm 0,16	1,45 \pm 0,12	1,33 \pm 0,12*	1,18 \pm 0,10*
ЭФ %	24,35 \pm 3,39	14,15 \pm 1,15*	11,08 \pm 1,53*	9,25 \pm 1,21*
НФ %	21,92 \pm 3,33	18,38 \pm 2,03	19,34 \pm 2,23	19,56 \pm 2,36
МФ %	47,30 \pm 4,95	63,58 \pm 6,44	67,40 \pm 5,86*	69,33 \pm 5,37*
ЛФ %	6,23 \pm 0,71	3,75 \pm 0,41	2,08 \pm 0,31*	1,75 \pm 0,09*
ПЦ%	0,20 \pm 0,04	0,15 \pm 0,02	0,10 \pm 0,00	0,11 \pm 0,00*

*- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ – достоверность различий по сравнению с исходным значением.

Для оценки клинической и цитоморфологической динамики под влиянием будесонида при различной длительности заболевания больные были распределены по группам. Пациенты со сроком болезни до 2 лет входили в

первую группу (I), страдающие астмой в течение 3-5 лет – во вторую (II), со стажем заболевания 6-10 лет – в третью (III), и четвертую группу (IV) составили больные с давностью болезни свыше 11 лет.

Изучение клинико-функциональных показателей и цитологического состава ИМ и браш-биоптатов на фоне лечения будесонидом показало примерно одинаковую по времени наступления и количеству признаков положительную динамику в группах больных с разной длительностью заболевания.

Однако, анализ результатов исследования бронхобиоптатов показал, что наиболее быстрой и полной она была у пациентов I группы, когда на сроке лечения «6 месяцев» выявлялась достоверная разница практически по всем показателям. У больных II и III группы достоверное снижение уровня эозинофилов наблюдалось только через год терапии, тогда как через 6 месяцев такие изменения отсутствовали. У пациентов IV группы через полгода лечения помимо этого наблюдалось отсутствие динамики со стороны толщины базальной мембраны, высоты эпителия и соотношения бокаловидных и реснитчатых клеток, однако эти параметры претерпели положительные изменения спустя год от начала терапии .

Таким образом, динамика морфологической картины слизистой оболочки бронхов на фоне лечения будесонидом зависит от срока давности БА. У пациентов с более коротким стажем болезни положительные изменения отмечены уже при более коротких сроках лечения, а с увеличением длительности заболевания динамика показателей замедляется. Это свидетельствует о необходимости раннего начала лечения БА ингаляционными кортикостероидами для достижения наилучшего возможного результата. Хотя даже у пациентов с большим стажем болезни через год терапии все же происходят достоверные изменения морфологической картины, что говорит о реальной возможности развития у них процессов восстановления морфологической структуры слизистой бронхов.

ВЫВОДЫ

1. Клеточный состав индуцированной мокроты при всех формах бронхиальной астмы характеризуется повышенным уровнем цитоза, эозинофилов, и сниженным – альвеолярных макрофагов по сравнению со здоровыми. Он достоверно отличается от таковых при исследовании браш-биоптатов и биоптатов слизистой оболочки бронхов более высоким процентом эозинофилов, нейтрофилов, макрофагов, и низким – лимфоцитов. Установлены положительные взаимосвязи между эозинофилами, макрофагами и нейтрофилами индуцированной мокроты и браш-биоптатов.
2. В цитоморфологической картине слизистой оболочки бронхов с увеличением длительности бронхиальной астмы наблюдается нарастание числа бокаловидных клеток, высоты эпителия, уровней фибробластов, реснитчатых

эпителиоцитов с признаками дистрофии и атрофии, что отражает прогрессирование процессов ее перестройки.

3. При применении будесонида при всех формах бронхиальной астмы наблюдается выраженная положительная клиническая динамика, заключающаяся в уменьшении частоты и тяжести приступов удушья, кратности использования β_2 – адреномиметиков, увеличении показателей ПСВ со снижением ее вариабельности.

4. Через полгода лечения будесонидом в слизистой оболочке бронхов снижается активность воспаления, происходят процессы частичного восстановления ее цитоморфологической структуры. Это выражается в уменьшении числа эозинофилов, лимфоцитов, высоты эпителия, изменении соотношения бокаловидных и реснитчатых клеток в сторону увеличения последних, уменьшении толщины базальной мембраны, числа миофибробластов, фибробластов стромы, резервных клеток, реснитчатых эпителиоцитов с признаками атрофии, плоскоклеточной метаплазии и увеличении пролиферирующих клеток, макрофагов. Через год к ним присоединяется снижение содержания эпителиоцитов с признаками дистрофии и нейтрофилов. В составе индуцированной мокроты уже через 3 месяца достоверно снижается уровень эозинофилов, лимфоцитов и возрастает количество макрофагов.

5. При инфекционно-зависимой астме на фоне терапии будесонидом обнаружена замедленная динамика клинической и цитоморфологической картины слизистой оболочки бронхов.

6. У пациентов с короткими сроками болезни положительная динамика клинических и цитоморфологических показателей достигается уже через 6 месяцев лечения в отличие от больных с длительным течением заболевания, у которых подобные изменения возникают через год.

7. Оценка эффективности двух лекарственных форм будесонида (пудра, аэрозоль) показала, что динамика клинических и цитоморфологических показателей при их применении является одинаковой, что свидетельствует о их взаимозаменяемости.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Установленная высокая информативность цитологического исследования индуцированной мокроты, безопасность ее получения и возможность многократного повторения процедуры позволяют рекомендовать ее в качестве метода оценки бронхиального воспаления и контроля за противовоспалительной терапией.

2. Выявленная положительная клиническая и цитоморфологическая динамика под влиянием будесонида подтверждает высокую эффективность ингаляционных кортикостероидов и возможность частичного восстановления структуры слизистой оболочки бронхов, что препятствует прогрессированию процессов ремоделирования и развитию необратимого компонента бронхиальной обструкции.

3. Установленное в ходе исследования прогрессирование цитоморфологических изменений в слизистой оболочке бронхов с течением заболевания, замедленная положительная динамика на фоне лечения будесонидом у пациентов с длительным сроком болезни, доказывают целесообразность раннего назначения ингаляционных кортикостероидов при бронхиальной астме.

4. Эффект, полученный через 12 месяцев терапии будесонидом, превосходил таковой через полгода, что обосновывает необходимость длительного приема ингаляционных кортикостероидов как минимум в течение года.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Тонзан в комплексной терапии обострений хронического бронхита // VIII Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство». Материалы. – Москва, 2001. – с.125. – соавт. Волкова Л.И., Букреева Е.Б., Биттнер И.А., Будкова А.А., Черемисина О.А.

2. Опыт применения фенспирида (эrespала) при обострении хронического бронхита // Клиническая фармакология и терапия. – 2000. – №9(5). – С.35-38. – соавт. Волкова Л.И., Букреева Е.Б., Боярко В.В., Геренг Е.А.

3. Активация каталазы лимфоцитов и сыворотки крови больных бронхиальной астмой под влиянием ингаляционных кортикостероидов: Сборник резюме. / Шестая международная конференция «Биоантиоксидант». – Москва, 2002 г. – С. 122. – соавт.: Андрушкевич В.В., Середа Е.Е., Леусова О.П.

4. Клеточный состав индуцированной мокроты и бронхиальных браш-биоптатов при атопической и смешанной астме // III Международный конгресс «Науки о человеке» / Сборник статей молодых ученых и специалистов. – Томск, 2002. – С. 55. – соавт.: нет.

5. Cellular structure of induced sputum and bronchial brush biopates in asthma // Eur. Respir. J.: Abstracts. E.R.S. Annual Congress. Stockholm. – 2002. – Vol. 20, Suppl.38. – P. 419. – Co-authors: L. Volkova, R. Pleshko.

6. Cytomorphologic assessment of anti-inflammatory efficacy of inhalation budesonid in bronchial asthma // Eur. Respir. J.: Abstracts. E.R.S. Annual Congress. Vienna, Austria. – 2003. – Vol. 22, Suppl. 48. – P. 589. – Co-authors: L. Volkova, R. Pleshko, T. Eremina.

7. Цитоморфологическая оценка противовоспалительного эффекта будесонида при бронхиальной астме // IV Международный конгресс «Науки о человеке» / Сборник статей молодых ученых и специалистов. – Томск, 2003. – С. 170-171. – соавт.: нет.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АБА – атопическая бронхиальная астма
АМ – макрофаги
БА – бронхиальная астма
ББ – бронхиальная биопсия
БББ - бронхиальная браш-биопсия
БК – бокаловидные клетки
БМ – базальная мембрана
БФС – бронхофиброскопия
ВПСВ – вариабельность пиковой скорости выдоха
ИЗБА – инфекционно-зависимая бронхиальная астма
ИКС – ингаляционные кортикостероиды
ИМ – индуцированная мокрота
ЛФ – лимфоциты
МН – моноциты
МПЭК – метаплазированные плоскоэпителиальные клетки
МФБ - миофибробласты
МЭЛФ – межэпителиальные лимфоциты
МЭМФ – межэпителиальные макрофаги
МЭНФ - межэпителиальные нейтрофилы
МЭЭФ – межэпителиальные эозинофилы
НФ – нейтрофилы
ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1 секунду
ПСВ – пиковая скорость выдоха
ПЦ – плазмоциты
РК – резервные клетки
РЭНС – реснитчатые эпителиоциты нормального строения
РЭПА - реснитчатые эпителиоциты с признаками атрофии
РЭПД - реснитчатые эпителиоциты с признаками дистрофии
РЭПП - реснитчатые эпителиоциты с признаками пролиферации
СБА – смешанная бронхиальная астма
ФЖЕЛ - форсированная жизненная емкость легких
ФБ – фибробласты
ЭФ – эозинофилы