

# ASTMALILARDA BRONŞ EPİTELİNDEKİ ULTRASTRÜKTÜREL DEĞİŞİKLİKLER VE BRONŞ DUYARLILIĞI<sup>(X)</sup>

Mehmet EKİCİ\*, Muzaffer METİNTAŞ\*, Nurşen SAYIN\*\*, Canan AKBAY\*\*,  
Necla ÖZDEMİR\*, Cengiz BAYCU\*\*\*, Füsün YILDIZ\*, Sinan ERGİNEL\*

Osman Gazi Üniv. Tıp Fak. Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı\*  
Ankara Üniv. Tıp Fakültesi Histoloji Bilim Dalı\*\*  
Osman Gazi Üniv. Tıp Fakültesi Histoloji Bilim Dalı\*\*\*

## ÖZET

*Astmalı 15 ve normal 2 kişiden fiberoptik bronkoskopi ile alınan bronşial biyopsilerin ultrastrüktürel özelliklerini ve bunların bronş duyarlılık derecesi ile ilişkisini araştırdık. Ayrıca 5 hastanın bronş provokasyon testinden 3 saat sonra tekrarlanan bronş biyopsilerinin elektron mikroskop ile sonuçlarını değerlendirdik. Kontrol grubunda epitelin sağlıklı yapısını koruduğu görüldükçe, astmalılarda bronş duyarlılığının artışına paralel olarak epitel yapısında bozulma olduğu ve provokasyon testinden 3 saat sonra lamina propria'da mast hücresi, fibroblast ve makrofaj infiltrasyonunun arttığı gözlemlendi.*

*Anahtar sözcükler:* Astma, bronş biopsisi, ultrastrüktürel değişiklikler, bronş duyarlılığı

## SUMMARY

*We have examined the ultrastructural qualities of bronchial biopsies which have taken by fiberoptic bronchoscopy in 15 asthmatic patient and 2 normal people. We have also researched for the relationship of these qualities with bronchial responsiveness and evaluated the electron microscopic bronchial biopsy results of 5 asthmatics which have taken 3 hours later than bronchial provocation test. The epithelial structure was found normal in control group, but the epithelial structure of asthmatic patients was found destroyed which was parallel with the increase of bronchial responsiveness. Also it was seen that the cell infiltration in lamina propria as remarkably increased 3 hours later than bronchial provocation test.*

*Key words:* Asthma, bronchial biopsy, ultrastructural changes, bronchial responsiveness.

Astma atağı sonucu ölenlerin histopatolojik özellikleri iyi incelenmesine rağmen, hafif ve orta ciddiyetteki astmalıların strüktürel değişiklikleri iyi tanımlanmamıştır (15). Astmalıların havayolu mukozasında histolojik olarak; yüzeyel epitel kaybı, bazal membran kalınlaşması, bronş kan damarlarında dilatasyon, mukozal ödem, submukozal glandlarda ve bronş düz kasında hipertrofi, inflamatuvar

hücre infiltrasyonu gözlenir (1,8,19).

Bu çalışmada astma polikliniğinde takip ettiğimiz 15 stabil astmalıda bronş duyarlılığı ile bronş mukozasındaki gözlenebilecek ultrastrüktürel değişikliklerin ilişkisini araştırdık. Ayrıca bu hastaların 5'ine metakolin inhalasyon testi yapıldıktan 3 saat sonra tekrarlanan bronş biyopsileriyle, provokasyon sonrasında oluşabilecek ultrastrüktürel deği-

(X). Türkiye Solunum Araştırmaları Derneęi XXI. Ulusal Kongresinde Sunulmuştur.

şikliklerin özelliklerini incelemeyi amaçladık.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya aldığımız 15 hastadan 8'i kadın, 7'si erkek ve yaş ortalaması 30.06 idi. Yaşları 15 ile 52 arasında değişiyordu. Astma tanısı öksürük, dispne, wheezing atakları hikayesi ve bronş hiperreaktivitesinin gösterilmesiyle konuldu. Hastalara uygulanan deri prick testine göre atopik ve non-atopik astma olarak sınıflandırıldı. Buna göre hastaların 6'sı atopik, 9'u non-atopik astmaydı.

Kontrol grubu olarak aldığımız 2 kadının postnazal akıntıya bağlı öksürük şikayetleri vardı. Hiç sigara içmemiş olan bu hastaların bronş provokasyon testleri negatifti.

Bronş hiperreaktivitesini tespit etmek için yaptığımız metakolin inhalasyon testi bronkospiden 10 gün önce Cockcroft metoduna göre yapıldı (5). Bronş provokasyon testinden 24 saat önce tüm tedaviler kesildi. Temel spirometrik değerler "Vitalograph" kuru spirometresiyle ölçüldü. Metakolin dozu (% 0.4'lük) 0.03 mg/ml'den başlayıp, ikiye katlanarak 16 mg/ml'ye kadar çıktı. Pari marka nebulizör cihazı ile yapılan her metakolin inhalasyonundan sonra 1'inci ve 3'üncü dakikalarda spirometrik ölçümler tekrarlandı. FEV<sub>1</sub>'de %20 ve üzerinde düşüş gözlemlendiğinde veya son doza erişildiğinde test sonlandırıldı. Doz-cevap eğrisinden FEV<sub>1</sub>'de %20'lik düşüşe neden olan metakolin konsantras-

yonu (PC<sub>20</sub>) hesaplandı. Bronş duyarlılığı Cockcroft'a göre hafif (1 mg/ml < PC<sub>20</sub> ≤ 8 mg/ml), orta (0.125 mg/ml < PC<sub>20</sub> < 1mg/ml) ve ciddi (PC<sub>20</sub> ≤ 0.125 mg/ml) olarak sınıflandırıldı (5).

Klinik ve bronş provokasyon testi ile astma tanısı kesinleşen hastalarda bronkoskopik inceleme yapıldı. Bronkospiden 20 dakika önce premedikasyon için inhale salbutamol (200 µg), atropin (0.6 mg) i.m. ve diazepam (5 mg) i.m. uygulandı. Kontrol grubunda ise sadece atropin ve diazepam ile premedikasyon yapıldı. Lidokain sprey (%10) ile ağız ve farinks anestezisi sağlandı. Daha ileri anestezi için %2'lik Lidokain larinksden trakeaya verildi. Bronkopski Olympus BF Type 2T10 marka fiberoptik bronkoskop ile transoral olarak uygulandı. Bronşial astmalılara nazal kanül ile 2-4 lt/dk oksijen verildi. Bronş sistemi tüm gövden geçirildikten sonra sağ orta lob segment karinasından iki adet biopsi FB-19C forsepsi ile alındı. Hiç bir hastada komplikasyon görülmedi. Ayrıca astmalı hastalardan 5'ine (orta derecede bronş duyarlılığı olan) bir gün sonra metakolinle bronş provokasyon testi uygulandı ve bundan 3 saat sonra sağ orta lob segment karinasının hemen altındaki sağlam görünen mukozadan ikinci biyopsi örnekleri (2 adet) alındı (Provokasyon testinin bronş epitelinde yapacağı değişiklikleri incelemek için).

Biopsi örnekleri kodlanarak difosfat tampon-



lu soğuk %2.5'lik guluteralehid solüsyonu bulunan şişelere yerleştirildi. Bu şişeler buzlu termoslar ile 5 saat içinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Bilim Dalı Elektron mikroskopi ünitesine gönderildi. Burada tüm gece muhafaza etmek için aynı fosfat tampondaki %8'lik soğuk sakkaroz ile bir kaç defa yıkandı. İkinci basamak fiksasyon %1'lik difosfat tamponlu osmium tetraoksitle 2 saatte yapıldı. İlk ve ikinci fiksasyon için pH 6.9-7.1 oranda tutuluyordu. Doku blokları dehidrate edildi ve araldit kaşımına gömüldü. İnce kesitler (1-2 mikron) metilen mavisi ile boyanıp, ışık mikroskopi ile

bölgesel gözlem yapıldı. Gümüş renkli 300-400 A°'lik ince kesitler Porter Blum III ultramikrotom kullanılarak elde edildi ve uranil asetat, kurşun sitrat ile boyandı. Tüm ince kesitlerin Karl Zeiss 9 S 2 elektron mikroskopi ile incelenip fotoğrafları çekildi.

### BULGULAR

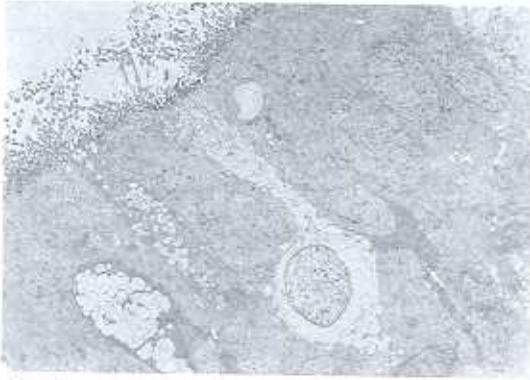
Semptom süreleri 1 ile 10 yıl arasında değişen 15 astmatik hastanın metakolin bronş provokasyon testine göre 4'ü hafif, 7'si orta, 4'ü belirgin derecede bronş duyarlılığına sahipti (Tablo I).

Kontrol grubundan alınan doku örneklerinin

Tablo I. Astmalı hastaların klinik özellikleri

No	Cins	Yaş	Eozinofil (mm <sup>3</sup> )	IgE (IU/ml)	PC <sub>20</sub> (mg/ml)	% FEV <sub>1</sub>	Allergen	Semp. Süre.
1	E	52	550	205	2	124	-	10
2	K	16	400	196	0.16	101	mite	10
3	K	24	850	427	0.13	90	-	1
4	E	21	300	96	0.20	86	mite	1
5	K	28	400	150	0.35	110	-	2
6	K	28	500	49	1.2	103	-	5
7	K	37	600	480	0.09	97	mite	3
8	E	15	350	41	2.9	132	-	2
9	E	35	600	400	0.6	102	-	2
10	E	33	500	101	2.1	111	-	3
11	K	28	150	462	0.08	103	Pollen	2
12	E	33	800	200	0.03	67	-	4
13	E	34	200	451	0.09	126	mite	5
14	K	27	600	806	0.3	113	-	4
15	K	40	200	102	0.4	90	Pollen	10

elektron mikroskopunda yapılan inceleme-  
sinde bronş mukozasının düzgün prizmatik  
silyalı epitelle döşeli olduğu, prizmatik hü-  
reler arasında sitoplazması salgı granülleriyle  
dolu hücreler bulunduğu ve tüm epitel tabaka-  
sının sağlıklı yapısını koruduğu görüldü  
(Şekil 1). Epitelin oturmuş olduğu bazal lami-  
na ve altındaki gevşek bağ dokusu lamina  
propriada fibroblast, histiosit, monosit ve  
nötrofiller ile birlikte belirgin granülleriyle  
mast hücreleri görülüyordu. Hücrelerin yer-  
leşmiş olduğu ara maddede kollagen lif  
demetleri gözlemlendi (Şekil 2).

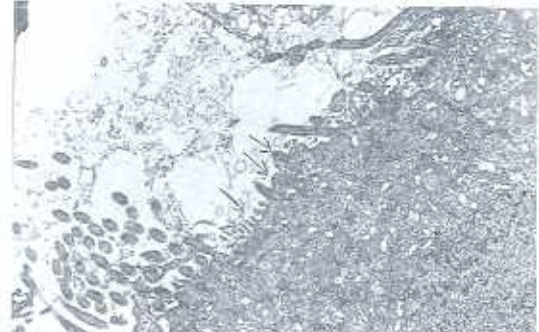


Şekil 1. Normal bronş epiteli, X1800



Şekil 2. Normalde epitel altı lamina propriada  
sitoplazması granüllerle dolu mast hücresi. X4500

Hafif ve duyarlı gruptakilerin epitel yapısının  
bozulduğu ve tamamen hasara uğramadığı,  
ancak kontrol grubuna göre kalınlığın azal-  
dığı görüldü. Elektron mikroskopla yapılan  
gözlemlerde hücrelerin apikal yüzündeki sili-  
ya düzeninin bozulduğu (Şekil 3). Siliya-  
larını giderek kaybeden hücrelerin apikal  
sitoplazmalarında bazal cisimcikler koyu yu-  
varlak şekilleriyle seçiliyordu. Hücre organel-  
lerinden endoplazma retikulumu ve mito-  
kondriyalarda vakuolizasyon olduğu göz-  
lemlendi. Hücreler arası bağlantıların bozul-  
duğu, yer yer hücreler arası aralıkların geniş-  
lediği saptandı (Şekil 4).



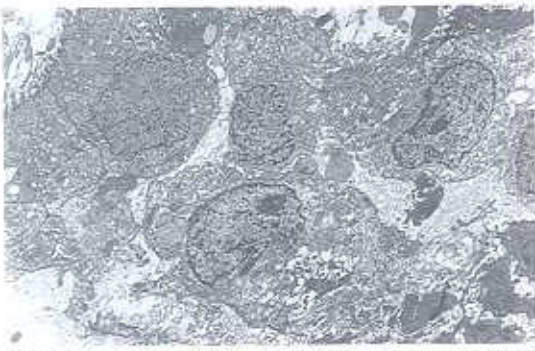
Şekil 3. Hafif duyarlı grupta siliya kaybı ve  
bazal cisimler. X4500



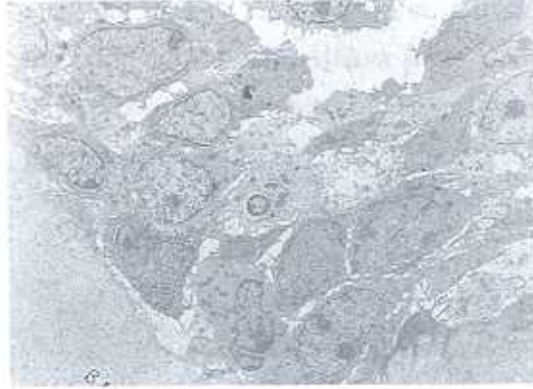
Şekil 4. Hafif duyarlı grupta epitel hücrelerinde  
mitokondriyalarda vakuolizasyon, hücreler arası  
genişleme. X1800



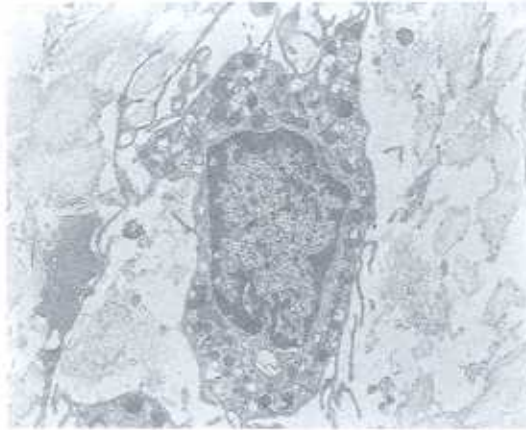
Orta ve ciddi bronş duyarlılığına sahip gruptakilerde epitelin tamamen bozulduğu, hücrelerin yer yer birbirlerinden koştukları, organellerin bozulduğu, siliyalı hücrelerin siliyalarını kaybettiği gözlemlendi (Şekil 5). Epitel altındaki bazal lamina yoğun retikulum liflerinin yığılmasıyla elektron mikroskopta kalın bir band halinde görüldü (Şekil 6). Lamina proprianın ödemli, mast hücrelerinin tamamen granüllerinin boşalmış olduğu, diğer hücrelerin de normal şekillerini kaybederek oval düzensiz bir görünümde olduğu gözleniyordu (Şekil 7). Ciddi bronş duyarlılığına sahip olanlardaki epitelde skuamatik değişiklik, epitel altında kalın bir bazal lamina, daha derin bölgelerde ise yoğun infiltrasyonu vardı (Şekil 8). Granüllerini boşaltmış mast hücreleri yuvarlak şekillerini kaybederek bir takım sitoplazmik uzantılar oluşturmuşlardı. Ayrıca aktif sentez yaptığı kısmını veren fibroblastların sitoplazmasında çok genişlemiş GER kesecikleri yayılmıştı ve bu hücrelerin yanısıra lenfositler gözleniyordu (Şekil 9).



Şekil 5. Orta derecede duyarlı grupta epitelin dejenerasyonu ve siliya kaybı. X 1800



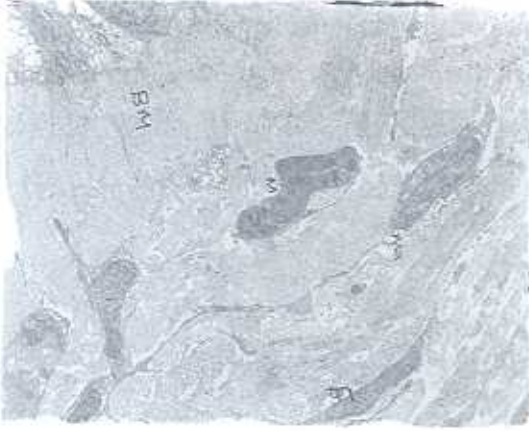
Şekil 6. Orta derecede duyarlı grupta epitel dejenerasyonu ve kalın bazal membran ve interselüler alan genişlemiş olarak görülüyor. X1800



Şekil 7. Ciddi bronş duyarlılığı olan grupta granüllerini boşaltmış mast hücreleri. X 4500



Şekil 8. Ciddi duyarlı grupta epitelde skuamatik değişiklik, band şeklinde kalınlaşmış bazal membran ve lamina propriyada hücreler. X1800

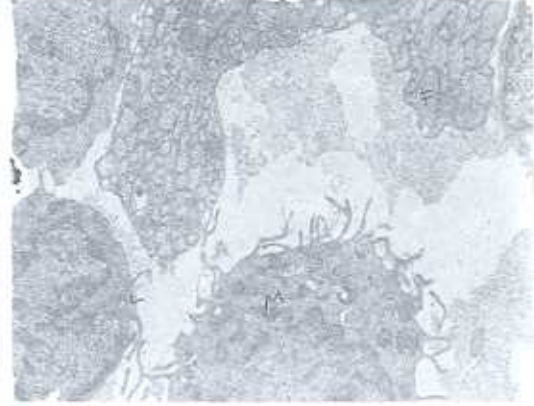


Şekil 9. Ciddi duyarlı grupta aktif sentez yapar fibroblastlar doğal şeklini kaybetmiş olar monosit, lenfosit ve kollagen lifler. X4500

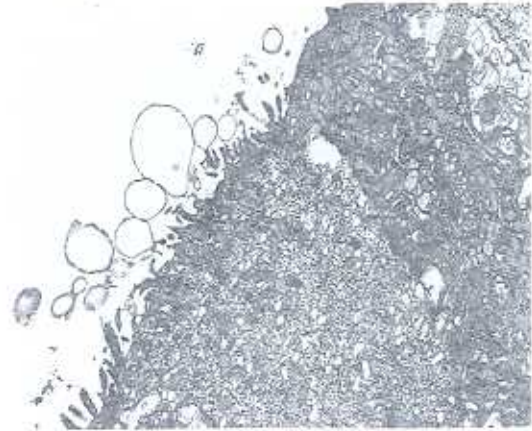
Orta derecede bronş duyarlığına sahip olan 5 kişinin metakolinle yapılan bronş provokasyonundan 3 saat sonra alınan doku kesitlerinde oldukça kalınlaşmış bir bazal lamina üzerinde yapısı bozulmuş epitelial hücreler arasında, intraepitelial yerleşmiş mast hücrelerine rastlandı (Şekil 10). Lamina propriada hücre infiltrasyonu oldukça yoğundu. Bu hücreler migrasyon yaptıkları kanısımı veren uzantılı düzensiz şekilde görülüyordu (Şekil 11). Bu gruptakilerde epitelin siliyalı yapılarını kaybederek küçük baloncuklar oluşturduklar gözlemlendi. Hücreler arası alan oldukça genişlemiş ve hücre organelleri ise doğal yapılarını kaybeder görünümdeydi (Şekil 12).



Şekil 10. Orta duyarlı grupta provokasyondan sonra intraepitelial mast hücreleri. X1800



Şekil 11. Orta duyarlı grupta provokasyondan sonra lamina propriada hücre infiltrasyonu. X1800



Şekil 12. Provokasyondan sonra epitel hücrelerinde yapısal bozukluklar. X4500



## TARTIŞMA

Çalışmamızda kontrol grubunda tüm epitel katının sağlıklı yapısını koruduğu görülürken, hafif derecede bronş duyarlılığına sahip astmalılarda epitel yapısının kısmen bozulduğu, siliya kaybı ve hücreler arası aralıkların genişlediği gözlemlendi. Orta ve ciddi bronş duyarlılığı olanlarda epitel yapısının tamamen bozulduğu, hücrelerin yer yer birbirlerinden koptukları, siliya kaybı ve epitelde skuamatik değişiklikler görülüyordu.

Jeffery ve arkadaşları yaptıkları benzer çalışmada astmalılarda havayolu duyarlılığı ne kadar yüksekse, epitel kaybının da o kadar büyük olduğunu bildirmiştir (9,10). Roche (17), Beasley (2) ve arkadaşları bronş epitel hasarını BAL sıvısındaki siliyalı hücre sayısını ölçerek değerlendirmişler ve lavaj sıvısındaki siliyalı epitel sayısı ile PC<sub>20</sub> değeri arasında önemli negatif korelasyon tespit etmişlerdir. Ollerenshaw ve Woolcock bronş hiperreaktivitesinin derecesi ve havayollarındaki patolojik değişiklikler arasında direkt ilişki bulamamışlardır (15). Laitinen hafif ve ciddi hiperreaktivitesi olan astmalılardaki epitel destrüksiyonunun, epiteliyal sınırları spesifik ve nonspesifik uyarılara maruz bırakacak kadar fazla olduğunu bildirmiştir (11). Bu çalışmaların çoğu bizim bulgularımıza uygunluk göstermekte ve bronş epitel hasarının, bronş hiperreaktivitesinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir.

Orta ve belirgin bronş duyarlılığına sahip olanlarda yoğun retikülüm liflerinin yığılmasıyla bazal membranda kalınlaşma gözlenirken, kontrol grubu ve hafif bronş duyarlılığı bulunanlarda kalınlaşma yoktu. Jeffery ve arkadaşları PC<sub>20</sub> ve bazal membran arasında zayıf negatif korelasyonu göstermişlerdir (9). Diğer çalışmalar astmalıların bazal membran kalınlığının normalden önemli düzeyde fazla olduğunu gösterip, bu kalınlaşmayı meydana getiren major komponentin kollogen olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bazal membran ölçümünün astmalılardan, astmalı olmayanlardan ayırd eden en iyi kriter olduğu rapor edilmiştir (3,5,6,13,18).

Kontrol grubunda granül dolu mast hücreleri görülürken (Lamina propriada), orta ve ciddi bronş duyarlılığına sahip astmatiklerde degranüle mast hücreleri izleniyordu. Eozinofillerin tüm gruplarda dikkati çekmemesi şaşırtıcı idi. Lozewicz ve arkadaşları atopik astmalıların normalle karşılaştırmışlar, lamina propriadaki mast hücrelerinin astmatiklerde daha fazla olduğunu, fakat eozinofil sayısında fark bulunmadığını göstermişlerdir (12). Poulter 15 astmatik hastanın bronş biopsilerinin histopatolojik incelemelerinde lamina propriadaki inflamatuvar reaksiyonun derecesinin hastadan hastaya değiştiğini bildirmiştir (16). Atopik astmalılarda yapılan endobronşial biopsinin elektron mikroskopisi çalışmasında astmatiklerde mast hücreleri ve

ezinofillerde degranülasyon gözleniyordu. Eozinofil ve mast hücresi sayısı ile bronş duyarlılığı arasında korelasyon tespit edilemedi (7). Diğer bir çalışmada astmatiklerde degranüle mast hücreleri ve degranüle eozinofillerin yüzdesinin, sağlıklı kontrol grubuna göre önemli derecede arttığı gözlemlendi (10). Çalışmalarda inflamatuvar reaksiyonunun özelliği ve derecesi farklılık göstermektedir. Bizim çalışmamızda; inflamatuvar cevapta dikkati çeken özellik, normalde granül dolu mast hücreleri ve astmatiklerde degranüle mast hücrelerinin görülmesidir.

Orta derecede bronş duyarlılığına sahip 5 kişinin metakolin inhalasyon testinden 3 saat sonra tekrarlanan biyopsi örneklerinde epitelde siliya kaybı, hücreler arası mesafede genişleme ve migrasyon yaptıkları kanısı

veren uzantılı düzensiz şekildeki hücrelerle lamina propriada yoğun infiltrasyon gözlemlendi. Beasley ve arkadaşları allerjen ve metakolin provokasyon testi yaptıktan 18 saat sonra tekrarlanan biopsi örneklerini karşılaştırdıklarında lamina propriada hücre artışı olduğunu, fakat bunun istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir (2). Diğer bir çalışmada astmatiklerde allerjen ekspozurunu takiben 4 saat sonra lavaj hücrelerinin elektron mikroskopik analizinde, eozinofil ve mast hücrelerinde degranülasyon meydana geldiği gözlenmiştir (14).

Çalışmamızda astmalı hastalarda bronş duyarlılığının artışına paralel olarak epitel yapısında bozulma olduğu ve provokasyondan 3 saat sonra submukozada hücre infiltrasyonunun arttığı gözlemlendi.

## KAYNAKLAR

1. Azzaw M, Bradley B, Jeffery PK, et al. Identification of activated "T" Lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 407-13.
2. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, et al. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 806-17.
3. Bousquet J, Chanaz P, Lacoste JY, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990; 323: 1033-9.
4. Cockcroft DW, Killian DN, Mellon JJA, et al. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clinical Allergy* 1977; 7: 235-43.
5. Concise Clinical Study: Quantitative Structural alterations in long-standing allergic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130: 289-92.
6. Djukanovic R, Lai CKW, Wilson JW, et al. Bronchial mucosal manifestations of atopy. *Eur Respir J* 1992; 5: 538-44.
7. Djukanovic R, Wilson JW, Britten M, et al. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am*



- Rev Respir Dis 1990; 142: 863-71.
8. Frigas E, Gleich GJ. The eosinophil and the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immun* 1986; 77: 527-37.
  9. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, et al. Bronchial biopsies in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 1745-53.
  10. Jeffery PK, Godfrey RW, Adelroth E, et al. Effects of treatment on airway inflammation and thickening of basement membrane reticular collagen in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 890-9.
  11. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, et al. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 599-606.
  12. Lozewicz S, Gomez E, Ferguson N, et al. Inflammatory cells in the airways in mild asthma. *BM J* 1988; 297: 1515-6.
  13. Mc Carter J, Durham JJ. The bronchial basement membrane in asthma. *Arch Path* 1966; 82: 328-35.
  14. Metzger WJ, Richerson HB, Worden K, et al. Bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic patients following allergen bronchoprovocation. *Chest* 1986; 89: 477-83.
  15. Ollerenshaw SL, Woolcock AJ. Characteristics of the inflammation in biopsies from large airway of subjects with asthma and subjects with chronic airflow limitation. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 922-7.
  16. Poulter LW, Power C, Burke C. The relationship between bronchial immunopathology and hyperresponsiveness in asthma. *Eur Respir J* 1990; 3: 792-9.
  17. Roche WR, Beasley R, Williams JN, et al. Subepithelial fibrosis in the bronchus, of asthmatics. *The Lancet* 1989; 11: 520-4.
  18. Salvato G. Some histological changes in chronic bronchitis and asthma. *Thorax* 1968; 23: 168-72.
  19. Takizawa T, Thurlbeck WM. Muscle and mucous gland size in the major bronchi of patient with chronic bronchitis, asthma, and asthmatic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* 1971; 104: 331-6.