

Комплексные лабораторные исследования при профессиональных заболеваниях органов дыхания

ГУ НИИ медицины труда РАМН, Москва

L.A.Ivanova, M.N.Gorizontova, Yu.V.Statsenko, I.V.Babenko, G.M.Vologzhanina, O.V.Krupenina

Complex laboratory investigations in occupational respiratory diseases

Summary

Results of complex laboratory examination of 103 patients with dust related bronchitis caused by exposure of various industrial dusts, 22 patients with pneumoconiosis and 12 subjects not having respiratory pathology and not exposed to quartz dust or any other occupational hazards are presented in this article. Laboratory examination included morphological investigations of sputum and bronchial brush biopsy specimens, cytochemical characterization of bronchial ciliated epithelium and blood cells, and bacteriological and serological investigations of bronchial mucus. Our results demonstrated that morphological lesions of bronchial epithelium cells leading to their death followed cell dysfunction, disorders of enzyme activity, hypoxemia, predominance of *Haemophilus influenzae* in microflora, and significant inflammatory and allergic response in blood. These changes were found in different clinical stages of dust related bronchitis and pneumoconiosis. The findings obtained are of great importance for understanding pathogenic mechanisms of dust related lung diseases as well as from clinical point of view such as diagnosis and development of individual treatment strategies.

Резюме

В статье представлены результаты комплексного лабораторного обследования 103 больных с пылевым бронхитом, вызванным различными видами производственной пыли, 22 пациентов с пневмокониозом различной степени выраженности и 12 человек, не имевших в анамнезе заболеваний органов дыхания и не подвергавшихся воздействию кварцосодержащей пыли и других профессиональных вредностей. Комплекс лабораторного обследования включал морфологическое изучение мокроты, соскоб слизистой бронхов, цитохимическую характеристику функционального состояния мерцательного эпителия, а также клеток крови в сочетании с бактериологической и серологической оценкой отделяемого бронхов. Исследования показали, что изменения морфологической структуры клеток бронхиального эпителия, приводящие к их гибели, связаны с нарушением функционального состояния, ферментативной активности клеток, гипоксемией, изменением микробной флоры с преобладанием *Haemophilus influenzae*, выраженной воспалительной и аллергической реакцией крови и характерны для различной степени выраженности клинических проявлений пылевого бронхита и пневмокониоза. Полученные данные имеют значение как с позиции уточнения патогенетических механизмов развития пылевых заболеваний легких, так и с практической точки зрения — в диагностике и при формировании индивидуальных лечебных комплексов при этой патологии.

Профессионально обусловленные патологии органов дыхания по распространенности и тяжести занимают одно из ведущих мест в структуре профессиональной заболеваемости и имеют существенное социально-экономическое значение [1–3]. Актуальной является проблема пылевого бронхита. В формировании патологического процесса при пылевом бронхите ведущее значение имеют 3 основных синдрома: обструктивный, инфекционно-воспалительный и эмфизема легких. При пылевом бронхите I стадии клиническая картина малосимптомна, при пылевом бронхите II стадии удается выделить преобладающий синдром, определяющий симптомокомплекс болезни, при пылевом бронхите III стадии наблюдается сочетание всех основных синдромов.

Цель настоящего исследования — выявить особенности различных вариантов клинического течения пылевого бронхита, чтобы более подробно охарактеризовать патогенетические особенности формирования пылевого бронхита, оценить прогноз заболевания и разработать комплекс оптимальных лечебных мероприятий.

Сложность патогенетических механизмов в развитии профессиональных заболеваний органов дыхания — пылевого бронхита, пневмокониоза, брон-

хиальной астмы — диктует необходимость использовать в диагностике расширенный комплекс методов для оценки воспалительных, токсических и аллергических реакций организма, включая эндоскопические исследования с гистологией биоптата слизистой бронхов, цитологические исследования, бактериологическое исследование мокроты, исследования клеток крови, а также анализ иммунологических и биохимических показателей [4–7].

Лабораторная диагностика легочных и бронхиальных заболеваний основана на исследовании мокроты, бронхиального аспирата, материала щеточной и катетерной биопсии, трансбронхиальной и трансторакальной пункционной аспирационной биопсии, которые составляют обширный раздел практической цитологии. К преимуществам цитологического исследования мокроты относят возможность проводить повторные и массовые анализы в амбулаторных условиях. С целью повышения информативности, особенно для выявления злокачественных новообразований, рекомендуется 3–5-кратное исследование мокроты. Другой задачей с расширением методических и технических возможностей в цитологии, с применением цитохимического, иммуноцитохимического методов, цитофлуориметрии является

качественная идентификация и количественная оценка различных клеточных и внутриклеточных обменных и иммунологических процессов. Особое значение приобретают исследования материала бронхофиброскопии, которые дают объективную информацию о характере изменения бронхиального дерева и течения патологического процесса, уточняют причину жалоб и функциональных расстройств, дают возможность ставить диагноз заболевания, когда клинико-рентгенологические и функциональные методы еще недостаточно информативны, позволяют верифицировать диагноз пылевого заболевания и провести дифференциальный диагноз с заболеваниями легких непрофессиональной этиологии.

При этом большую роль играют и бактериологические исследования, позволяющие охарактеризовать микробный состав мокроты с выделением патогенных штаммов микроорганизмов, имеющих ведущее значение в формировании пылевого бронхита.

Материал и методы

Были обследованы 137 человек, из них 103 больных пылевым бронхитом, вызванным различными видами производственной пыли и 22 пациента с пневмокониозом различной степени выраженности. Контрольную группу для проведения бронхофиброскопии составили 12 человек, не имевших в анамнезе заболеваний органов дыхания и не подвергавшихся воздействию кварцсодержащей пыли и других профессиональных вредностей.

Среди 103 больных пылевым бронхитом у 6 человек признаки заболевания были начальными (1-я группа). У 97 пациентов был пылевой бронхит II и III стадий, из которых 67 человек составили 2-ю группу с преобладанием обструктивного синдрома и 30 человек – 3-ю группу с преобладанием инфекционно-воспалительного синдрома.

По данным бронхофиброскопического исследования [8], проведенного среди 48 больных, ни в одном случае состояние стенки бронхов не было нормальным. Во всех случаях процесс был двусторонним и сочетался с трахеитом. У всех обследованных выявлен хронический процесс в бронхах, эндоскопическая картина которого отличается от таковой при хроническом бронхите непрофессиональной этиологии и характеризуется преобладанием атрофического, в большинстве случаев – склерозирую-

щего процесса. Признаки обострения процесса с наличием текущего воспаления на фоне атрофического диффузного двустороннего бронхита выявлены только у 3 из 19 больных в 3-й группе.

При проведении лабораторных исследований был применен комплексный методический подход, который включал: морфологическое изучение клеточного состава мокроты; цитологическую характеристику соскоба слизистой бронхов материала бронхофиброскопии с количественной оценкой содержания эпителиальных, макрофагальных элементов и различных форм лейкоцитов (бронхоцитогамма); исследование морфологического состава крови; бактериологический анализ мокроты; серологические исследования микробной сенсибилизации к различным видам патогенных микроорганизмов; цитохимические исследования ключевых показателей метаболизма клеток для оценки функционального состояния лейкоцитов крови в аллергических и воспалительных реакциях организма и функционального состояния мерцательного эпителия бронхов как основного клеточного элемента в мукоциллиарном эскалаторе бронхиального дерева.

Результаты и обсуждение

Количественная оценка клеточного состава соскоба слизистой бронхов II порядка включала эпителиальные, лейкоцитарные элементы, а также клетки рыхлой соединительной ткани (плазматические и тучные), макрофагальные элементы и плоский эпителий верхних дыхательных путей. Среди бронхиального эпителия основную массу составляли клетки мерцательного эпителия, а также железистый и базальный эпителий. Лейкоцитарные элементы крови представляли нейтрофилы, эозинофилы, моноциты и лимфоциты. Основные цитологические изменения в обследованных группах больных касались клеток бронхиального эпителия и лейкоцитов (табл. 1).

При цитологическом исследовании слизистой бронхов (табл. 1) у всех обследованных больных с пылевым бронхитом обнаружено повышенное содержание дегенеративно-измененного бронхиального эпителия, количество которого в бронхоцитогамме составляло в 1-й группе 3,2 %, во 2-й группе – 18,8 %, а в 3-й группе 15,0 % от общего числа клеток (в контрольной группе – 1,6 %). У больных с преобладанием воспалительного процесса в бронхоцитогамме

Таблица 1
Бронхоцитогамма в контроле у больных ($M \pm m$), %

Группа обследованных	Эпителий бронхов				Лейкоциты			
	мерцательный	железистый	базальные клетки	дегенерированный	нейтрофилы	эозинофилы	лимфоциты	моноциты
Контроль (n = 12)	76,9 ± 3,6	4,5 ± 0,9	6,2 ± 2,3	1,6 ± 1,5	2,2 ± 0,9	0,03 ± 0,03	2,2 ± 0,8	0,23 ± 0,07
Больные пылевым бронхитом:								
1-я группа (n = 6)	86,45 ± 7,00	2,2 ± 1,2	1,9 ± 0,7	3,2 ± 1,0	1,76 ± 0,50	0,060 ± 0,02	0,9 ± 0,2	0,87 ± 0,30
2-я группа (n = 22)	70,38 ± 2,20	2,46 ± 0,60	1,2 ± 0,4	18,8 ± 2,10*	1,4 ± 0,3	0,20 ± 0,07*	2,0 ± 0,3	0,38 ± 0,10
3-я группа (n = 20)	65,53 ± 3,30	2,03 ± 0,20	1,4 ± 0,3	15,0 ± 2,3*	9,0 ± 1,2*	0,6 ± 0,3*	3,7 ± 0,2	0,45 ± 0,10

Примечание: * – достоверные различия с группой контроля ($p > 0,05$).

Таблица 2

Результаты бактериологического и серологического исследования больных пылевым бронхитом с различными вариантами клинического течения ($M \pm t$)

Виды микроорганизмов	Частота выявления, %			
	микроорганизмов		микробной сенсибилизации	
	2-я группа (n = 67)	3-я группа (n = 30)	2-я группа (n = 45)	3-я группа (n = 23)
<i>Haemophilus influenzae</i>	55,2 ± 6,0	63,3 ± 8,7	33,3 ± 7,2	43,3 ± 33,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	38,8 ± 5,9	53,3 ± 9,0	31,1 ± 6,8	8,0 ± 5,7
<i>Klebsiella</i> spp.	28,3 ± 5,4	20,0 ± 7,3	13,3 ± 6,8	13,7 ± 7,3
<i>Staphylococcus</i> spp.	11,9 ± 3,9	10,0 ± 5,4	26,7 ± 6,5	4,3 ± 4,0
<i>Streptococcus</i> spp.	17,9 ± 4,6	30,0 ± 6,7	2,2 ± 2,1	8,6 ± 5,9
<i>Candida</i> sp.	22,4 ± 5,0	30,0 ± 6,7	6,6 ± 3,6	–

среди лейкоцитарных элементов нейтрофилы и лимфоциты обнаружены в большем количестве (9,0 % и 3,7 %), чем при обструктивном синдроме (соответственно 1,4 % и 2,0 %), при 2,2 % нейтрофилов и 2,2 % лимфоцитов в контроле. Как во 2-й, так и в 3-й группах отмечено увеличение числа эозинофильных лейкоцитов. Их количество составляло при обструктивном синдроме 0,2 %, а при воспалительном – 0,6 % (при 0,03 % в контроле).

При наличии воспалительных изменений в морфологической картине соскоба слизистой бронхов важное значение имеет изучение микрофлоры мокроты, которое позволяет во многих случаях обнаружить присутствие патогенных штаммов, причастных к хроническим воспалительным процессам в бронхиальном дереве (табл. 2).

Выявлено, что в мокроте больных с преобладанием инфекционно-воспалительного синдрома чаще, чем у пациентов с обструктивным синдромом встречаются *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* sp. и *Haemophilus influenzae*. Заслуживают внимание и данные серологических исследований, которые указывают на то, что показатели микробной сенсибилизации к *Str. pneumoniae* и *Staphylococcus* sp. были значительно выше во 2-й группе, что является подтверждением аллергической природы обструктивного синдрома, в основе которой лежат процессы сенсибилизации к микрофлоре мокроты.

Бактериологическое исследование микрофлоры бронхов у больных пылевым бронхитом подтвердило полученные данные о том, что преобладающей микрофлорой у них являются *H. influenzae* и *Str. pneumoniae*, которые высевались раздельно или в ассоциации. Помимо этих микроорганизмов, обнаруживались *Neisseria* spp., *Streptococcus* spp., в том числе *Streptococcus viridans*, а также *Staphylococcus* sp., *Candida* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*. Обсемененность мокроты больных хроническим бронхитом зависела от тяжести течения заболевания. При легком течении бронхита обсемененность мокроты как *H. influenzae*, так и *Str. pneumoniae* обычно бывает низкой. По-видимому, сниженная численность микробов при сохранном состоянии эпителия бронхиального дерева до определенного предела может не вызывать воспалительную реакцию в бронхах. Дальнейшее ухудшение состояния слизистой оболочки при продолжающемся воздействии промышленной пыли нарушает

барьерные функции слизистой оболочки и создает благоприятные условия для развития хронического инфекционного процесса в бронхиальном дереве. Не случайно у больных с цитологическими признаками активного воспалительного процесса в слизистой оболочке бронхов ассоциация *H. influenzae* и *Str. pneumoniae* встречалась в 2 раза чаще, чем у лиц без воспалительной реакции. Высокий уровень этих микроорганизмов в мокроте больных пылевым бронхитом и значительный процент антител к ним действительно свидетельствуют об их существенной роли (особенно в ассоциации) в патогенезе пылевого бронхита.

Дополнительные данные для уточнения роли различных механизмов в патогенезе пылевого бронхита предоставляют исследования крови. Так, уже при общегематологическом анализе в 3-й группе выявлены характерные для воспаления изменения: повышение СОЭ с 11 до 30 мм/час, увеличение количества лейкоцитов от 8,3 до 10,4 × 10⁹ в 1 л и числа палочкоядерных нейтрофилов от 8 до 16 % в лейкоцитарной формуле. В целом в 3-й группе отмечено более высокое, чем у больных с обструктивным синдромом, содержание в крови нейтрофильных лейкоцитов. Увеличение количества эозинофилов до 9–14 % в лейкоцитарной формуле наблюдалось как во 2-й, так и в 3-й группе (соответственно у 26 и 33 % обследованных).

Уточнить характер ведущих клинических синдромов при пылевом бронхите помогают цитохимические исследования крови. Большую выраженность воспалительных изменений у больных 3-й группы подтверждает выявление щелочной фосфатазы в нейтрофилах. Ее высокая активность отмечена у 95 % больных 3-й группы (88,0 ± 6,3 е. а. в среднем по группе). Во 2-й группе повышение щелочной фосфатазы нейтрофилов наблюдалось только в 42 % случаев (56,0 ± 1,5 е. а.; $p < 0,05$). Следует отметить, что активность кислой фосфатазы – фермента, связанного с аллергическими реакциями, – в лимфоцитах и нейтрофилах крови одинаково высока у пациентов как с обструктивным, так и с инфекционно-воспалительным синдромом (соответственно 83,1 ± 2,4 и 79,0 ± 2,2 % ферментположительных лимфоцитов и 75,5 ± 2,0 и 77,0 ± 4,0 % положительных нейтрофилов). Высокая активность кислой фосфатазы лейкоцитов наряду с повышенным количеством эозинофилов в крови и соскобе слизистой бронхов

у больных 3-й группы может свидетельствовать о роли аллергических механизмов и в хроническом воспалительном процессе, осложняющем течение пылевой бронхиты.

Для характеристики функционального состояния мерцательного эпителия соскоба слизистой бронхов (табл. 3) у 42 пациентов с пылевым бронхитом, 22 больных пневмокониозом и в контрольной группе (12 человек) методами цитохимии изучены активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и α -глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ) – митохондриальных ферментов, связанных с дыханием клетки.

Анализ результатов цитохимических исследований проведен в зависимости как от выраженности заболевания, так и степени оксигенации крови. В контрольной группе обследованных лиц отмечен нормальный уровень насыщения артериальной крови кислородом (SaO_2) – 94–96 %, в среднем 95 %.

В 1-й группе у 6 больных легко выраженным бронхитом с незначительным нарушением дыхательной функции отмечалась незначительная гипоксемия (SaO_2 – 92–93,8 %, в среднем 93,6 %). Во 2-й группе у 23 больных с обструктивным синдромом с более выраженной дыхательной недостаточностью выявлена гипоксемия I степени (SaO_2 – 90–92 %, в среднем 92,1 %). В 3-й группе у 12 человек с тяжелым осложненным бронхитом с выраженной воспалительной реакцией, обструктивным синдромом и выраженными морфологическими изменениями бронхиального дерева была гипоксемия II степени (SaO_2 – 82–89 %, в среднем 88,8 %).

Из 22 больных с пневмокониозом 6 человек с подозрением на пневмокониоз (0-I) без гипоксии (SaO_2 – 94 %) составили 2-ю группу А и 16 человек с пневмокониозом I-II стадии с нерезко выраженной гипоксемией (SaO_2 – 91–93 %, в среднем 92,3 %) включены во 2-ю группу Б.

Исследования показали, что у пациентов с пылевыми заболеваниями органов дыхания при различном уровне SaO_2 выявлены изменения со стороны энергетических ферментов в клетках мерцательного эпителия бронхов. При пылевом бронхите в клетках бронхиального эпителия прослеживается зависимость активности метаболических процессов от степени выраженности гипоксемии. Нормальное со-

держание кислорода в крови сочетается с неизменной ферментной активностью эпителиальных клеток. При небольшом снижении кислорода появляются незначительные сдвиги активности ферментов в виде снижения уровня СДГ и α -ГФДГ.

У больных с выраженным бронхитом более значительная гипоксемия и клинические признаки дыхательной недостаточности сопровождаются выраженным снижением активности этих ферментов в клетках мерцательного эпителия. У этих больных показатели содержания кислорода связаны не только с активностью дыхательного фермента – СДГ, но и с активностью другого митохондриального фермента – α -ГФДГ, что свидетельствует о мобилизации основных энергетических ресурсов клетки: дыхания и гликолиза. Следует отметить, что в мерцательном эпителии бронхиального дерева реакция на гипоксемию проявлялась не только подавлением обменных процессов в клетки, но и морфологическим нарушением, приводящим к повышенному разрушению клеток.

При пневмокониозе, в отличие от пылевого бронхита, изменение ферментной активности изученных клеток проявлялись уже на начальных стадиях заболевания. У лиц с подозрением на пневмокониоз с нормальными показателями SaO_2 активность дыхательных ферментов была повышена.

Заключение

Таким образом, комплекс лабораторных исследований, включающий морфологическое изучение мокроты, соскоба слизистой бронхиального дерева, цитохимическую характеристику функционального состояния мерцательного эпителия бронхов, а также клеток крови в сочетании с бактериологической и серологической оценкой отделяемого бронхов, является информативным как в диагностике, так и в характеристике патогенетических механизмов пылевых легочных заболеваний.

Изучение клеточного состава соскоба слизистой оболочки бронхов при пылевом бронхите количественным методом показало, что бронхоцитограмма отражает характер и особенности поражения слизистой оболочки бронхов при пылевом воздействии.

Таблица 3

Цитохимические изменения клеток бронхиального эпителия при пылевом бронхите и пневмокониозе в зависимости от степени гипоксемии

Обследованная группа	Число наблюдений	Исследуемые показатели ($M \pm m$)		
		SaO_2	α -ГФДГ	СДГ
Контрольная группа	12	95,0 \pm 0,3	2,51 \pm 0,10	2,58 \pm 0,10
Больные пылевым бронхитом:				
1-я группа	6	93,60 \pm 0,01	2,4 \pm 0,2	2,49 \pm 0,1
2-я группа	23	92,1 \pm 0,2	2,2 \pm 0,1	2,02 \pm 0,10*
3-я группа	12	88,8 \pm 1,7	2,1 \pm 0,2	1,82 \pm 0,20*
Больные пневмокониозом:				
2-я группа А	6	94,00 \pm 0,01	2,71 \pm 0,20	2,22 \pm 0,30
2-я группа Б	16	92,3 \pm 0,2	2,04 \pm 0,20	2,08 \pm 0,20

Примечание: * – достоверные различия с контролем ($p > 0,05$).

Степень выраженности этих изменений коррелирует с особенностями клинической формы заболевания. Состояние бронхиального эпителия при пылевом бронхите характеризуется преимущественно атрофическими его изменениями, что проявляется в бронхоцитограмме возрастанием числа дегенерированных клеток. По их количественному содержанию в мазках можно судить о выраженности атрофических изменений в бронхиальном дереве. При наличии воспалительной реакции слизистой оболочки бронхов увеличивается число лейкоцитарных клеток и макрофагальных элементов.

Исследования показали, что изменения морфологической структуры клеток бронхиального эпителия, приводящие к их гибели, связаны с развитием в клетке энергодифицитного состояния и внутриклеточной гипоксией, гипоксемией, изменением микробной флоры с преобладанием *H. influenzae*, выраженной воспалительной и аллергической реакцией крови и характерны для различной степени выраженности клинических проявлений пылевого бронхита и пневмокониоза.

В ходе исследований удалось выделить отдельные цитологические, цитохимические и микробиологические показатели, наиболее выраженно изменяющиеся при преобладании в картине заболевания того или иного клинического синдрома.

Полученные данные имеют значение как для уточнения патогенетических механизмов развития пылевого бронхита, так и в практических целях — при разработке индивидуальных программ лечения.

Литература

1. Васильева О.С. Профессиональная бронхиальная астма: клинические варианты и диагностика. Пульмонология 2005; 5: 61–68.
2. Рослая Н.А. Профессиональные заболевания органов дыхания при производстве сплавов тугоплавких металлов (особенности развития, течения и медицинской реабилитации): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2007.
3. Разумов В.В., Панаев Н.И., Шацова Г.М. и др. Проблемы формирования группы риска при хроническом пылевом профессиональном бронхите. В кн.: Материалы III Всероссийского конгресса "Профессия и здоровье". М.; 2004. 274–276.
4. Артамонова В.Г., Фишман Б.Б., Лашина Е.Л. и др. Гистоморфологическая картина формирования пылевой болезни легких при воздействии пыли каолина и муллита. В кн.: Материалы IV Всероссийского конгресса "Профессия и здоровье". М.; 2005. 180–181.
5. Григорук О.Г., Лазарев А.Ф., Базулина Л.М. Диагностическая ценность цитологического метода при исследовании клеточного состава плевральной жидкости. Пульмонология 2007; 3: 66–71.
6. Боровская Т.Ф., Курпас Э.Х., Тимошин С.С. и др. Динамика иммунного ответа слизистой оболочки долевого бронха у больных пневмонией. Пульмонология 2003; 4: 22–25.
7. Сухарев А.Е., Ермолаева Т.Н., Беда Н.А. и др. Иммуноцитохимическое исследование бронхиального секрета в оценке степени эндобронхита. Пульмонология 2002; 4: 29–37.
8. Милишиникова В.В. Бронхофиброскопия при диагностике пылевых заболеваний легких: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1981.

Поступила 25.04.08
© Коллектив авторов, 2008
УДК 616.2-057-074/078