

---

---

## Клиническая медицина

---

---

УДК 616-053.3(078.5)

### **ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАХЕАЛЬНЫХ АСПИРАТОВ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ**

**Н. А. Шилова<sup>1\*</sup>**, кандидат медицинских наук,  
**Т. В. Чаша<sup>1</sup>**, доктор медицинских наук,  
**М. А. Родина<sup>1</sup>**,  
**Е. В. Проценко<sup>1</sup>**, кандидат медицинских наук,  
**А. Г. Хорошилова<sup>2</sup>**, кандидат медицинских наук

<sup>1</sup> ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова»  
Минздрава России, 153045, Россия, г. Иваново, ул. Победы, д. 20

<sup>2</sup> Департамент здравоохранения Ивановской области, 153000, Россия, г. Иваново, ул. Батурина, д. 8

**РЕЗЮМЕ** Проведено исследование трахеальных аспиратов 106 глубоко недоношенных детей. Показано, что у детей с врожденной пневмонией эндопульмональная цитограмма характеризуется наличием бактериальной и вирусной флоры, признаками гибели клеток альвеолярного эпителия преимущественно в виде некробиоза и некроза, а также более высоким, чем при респираторном дистресс-синдроме, средним количеством полиморфноядерных лейкоцитов. При респираторном дистресс-синдроме в цитограмме число неизмененных альвеолоцитов значимо выше, чем при пневмонии, гибель же клеток респираторного эпителия происходит преимущественно путем апоптоза.

**Ключевые слова:** глубоко недоношенные дети, трахеальный аспират, респираторный дистресс синдром, пневмония.

\* Ответственный за переписку (*corresponding author*): e-mail: shilova37@gmail.com.

Изучение количественного и качественного клеточного состава трахеальных аспиратов является дополнительным экспресс-методом в пульмонологии [2, 3, 11, 12, 13]. Его применение особенно актуально при отсутствии четких клинико-лабораторных и рентгенографических признаков заболевания, позволяющих провести диагностику дыхательных расстройств. Безусловно, современная медицина располагает более совершенными методами исследования – цитоспиновым и электронно-микро-

скопическим, позволяющими точно дифференцировать клеточный состав трахеального аспирата [1, 4, 5, 9]. Эти методики предполагают наличие дорогостоящего медицинского оборудования и реактивов для фиксации нативного материала, требуют специальной подготовки персонала, в связи с чем применимы далеко не в каждом лечебном учреждении. В целях удешевления и упрощения исследования мы предлагаем обратить внимание на незаслуженно забытый простой метод диагностики

---

Shilova N. A., Chasha T. V., Rodina M. A., Protsenko E. V., Khoroshilova A. G.

#### **CYTOLOGIC EXAMINATION OF TRACHEAL ASPIRATES IN EXTREMELY PRETERM NEWBORNS WITH RESPIRATORY DISORDERS**

**ABSTRACT** Tracheal aspirates in extremely preterm infants were examined. It was demonstrated that endopulmonic cytogram in infants with congenital pneumonia was characterized by bacterial and viral flora presence, by alveolar epithelium cells destruction signs (predominantly necrobiosis and necrosis) and by higher average quantity of polymorphonuclear leucocytes in comparison with respiratory distress syndrome. Unchanged number of alveolocyttes was significantly higher in cytogram in respiratory distress syndrome in comparison with pneumonia; respiratory epithelium cells were destructed by apoptosis predominantly.

**Key words:** extremely preterm infants, tracheal aspirate, respiratory distress syndrome, pneumonia.

легочной патологии – изучение состава трахеальных аспиратов на светооптическом уровне, которое выполнимо в любых условиях. В ряде случаев результаты этого исследования могут оказаться решающими при диагностике легочной патологии (в том числе у недоношенных новорожденных) и определении дальнейшей лечебной тактики.

Целью настоящего исследования стало выявление особенностей качественного и количественного состава трахеальных аспиратов при различных дыхательных расстройствах у глубоко недоношенных новорожденных.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено цитологическое исследование трахеальных аспиратов у 106 глубоко недоношенных новорожденных с очень низкой (1000–1499 г) и экстремально низкой (менее 1000 г) массой тела при рождении, гестационный возраст – менее 32 недель. Все дети в раннем неонатальном периоде имели дыхательные расстройства и были разделены на 3 группы. В первую группу вошли 14 новорожденных с респираторным дистресс-синдромом (РДС), во вторую – 65 детей с врожденной пневмонией, в третью – 27 новорожденных с неонатальной пневмонией, развившейся на фоне РДС.

Для цитологического исследования производился забор трахеальных аспиратов на третьи сутки жизни детей по стандартной методике [10]. Мазки из аспиратов готовили сразу либо в течение 1-го часа после взятия материала, поскольку это является неременным условием совпадения (93,4%) [9] полученных результатов с результатами оценки цитоспиновых препаратов, существенно повышающим ценность исследования. Препараты окрашивали по Граму и гематоксилином-эозином.

Оценка состава трахеальных аспиратов включала подсчет эпителиальных клеток (альвеолоцитов, клеток реснитчатого эпителия), полиморфноядерных лейкоцитов. Результат выражался в процентах при сплошном анализе 100 клеток. Ис-

следование проводилось на световом микроскопе «Micros» (Австрия) при увеличении в 1 000 раз.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 6.1. Нормальность распределения признака в вариационном ряду оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Полученные данные подчинялись закону нормального распределения и были представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. При сравнении количественных признаков двух совокупностей использовали критерий Стьюдента. Уровень статистической значимости –  $p < 0,05$  [8].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В мазках у детей всех групп выявлены альвеолоциты в состоянии дистрофии: при РДС – 35,2%, при врожденной и неонатальной пневмонии – 45,4 и 42,6% соответственно (табл. 1).

Некробиотические и некротические процессы в клетках альвеолярного эпителия имели значимо больший удельный вес у детей с врожденной пневмонией ( $30,1 \pm 10,8\%$ ), чем у новорожденных с РДС ( $14,6 \pm 5,5\%$ ,  $p < 0,05$ ), что обусловлено длительным прямым токсическим воздействием продуктов жизнедеятельности вирусов и бактериальной флоры, приводящим к спонтанному, неконтролируемому омертвлению клеток.

Цитологическая картина трахеальных аспиратов при РДС, в отличие от таковой при врожденной пневмонии, характеризовалась статистически значимым ( $p < 0,01$ ) увеличением числа альвеолоцитов с апоптозом и неизмененных альвеолоцитов (табл. 1), что, с нашей точки зрения, следует расценивать как результат саморегуляции организма.

Клетки реснитчатого эпителия верхних дыхательных путей обнаруживались у новорожденных всех групп более чем в половине случаев (табл. 2). На светооптическом уровне выявлено, что указан-

**Таблица 1.** Состояние альвеолоцитов в мазках трахеальных аспиратов у глубоко недоношенных новорожденных с дыхательными нарушениями

Показатели	Число клеток, %		
	Дети с РДС	Дети с врожденной пневмонией	Дети с неонатальной пневмонией на фоне РДС
Альвеолоциты с дистрофией	35,2 ± 8,5	45,4 ± 19,8	42,6 ± 19,1
Альвеолоциты с некрозом	14,6 ± 5,5	30,1 ± 10,8*	24,4 ± 12,1
Альвеолоциты с апоптозом	15,9 ± 7,4	4,9 ± 1,1**	9,6 ± 8,5
Альвеолоциты без патологии	34,3 ± 15,9	19,6 ± 13,1**	23,4 ± 14,1

*Примечание.* Статистическая значимость различий между показателями I и II групп: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ .

**Таблица 2.** Состояние клеток реснитчатого эпителия в мазках трахеальных аспиратов

Показатели	Дети с РДС	Дети с врожденной пневмонией	Дети с неонатальной пневмонией на фоне РДС
Частота встречаемости клеток в мазке, %	53,8	51,0	68,2
Реснитчатый эпителий с дистрофией, %	95,5 ± 21,0	87,9 ± 19,6	72,3 ± 31,4
Реснитчатый эпителий с некрозом, %	4,5 ± 1,6	12,1 ± 3,4*	10,9 ± 3,2**
Реснитчатый эпителий с апоптозом, %	0	0	16,8 ± 0,3

*Примечание.* Статистическая значимость различий между показателями ( $p < 0,01$ ): \* – I и II групп, \*\* – I и III групп.

ные клетки характеризовались деструкцией ресничек и находились большей частью в состоянии дистрофии. Некротические процессы статистически значимо чаще наблюдались у детей с врожденной и неонатальной пневмонией, чем у новорожденных с РДС.

Анализ содержания полиморфноядерных лейкоцитов в мазках трахеальных аспиратов проводился путем подсчета среднего количества лейкоцитов в поле зрения (при оценке не менее 10 полей зрения). При этом было выявлено значимое повышение среднего количества лейкоцитов в поле зрения в мазках у новорожденных с врожденной и неонатальной пневмонией по сравнению с детьми с РДС (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют о наличии воспалительного процесса в легочной ткани у детей с пневмонией. При указанной патологии лейкоциты, как правило, находились в состоянии глубокой дистрофии или некроза. При врожденной пневмонии большая часть (60%) лейкоцитов была полностью разрушена либо фагоцитоз был не завершен, что отражает неспособность организма глубоко недоношенных новорожденных отвечать полноценной лейкоцитарной реакцией на инфекцию и указывает на недостаточность клеточного иммунитета в легких, связанную, вероятно, как с физиологической, так и с патологической незрелостью иммунной системы вследствие ее дисхронного развития в условиях внутриутробного инфицирования [7]. Подтверждением этого явилось и то, что лимфоциты и макрофаги обнаруживались лишь в единичных мазках у пациен-

тов из группы с врожденной (в 7 случаях – 14%) и неонатальной (в 5 случаях – 18,5%) пневмонией, тогда как при развитии воспалительного процесса в легких на фоне неизмененного местного иммунитета наблюдается значительное увеличение количества указанных клеток [6].

У всех детей из групп с врожденной и неонатальной пневмонией в мазках трахеальных аспиратов, окрашенных по Граму, в большом количестве присутствовала бактериальная флора (кокковая и палочковая). У 5 детей выявлены околядерные или внутриядерные включения, позволяющие заподозрить вирусную инфекцию. У новорожденных с РДС лишь в 2 случаях (14,3%) констатированы единичные кокки в мазках.

У детей с тяжелым течением врожденной пневмонии, длительно находившихся на ИВЛ, трахеальный смыв состоял из клеточного детрита, пластов слущенных альвеолоцитов и эпителиальных клеток бронхов. Клетки респираторного эпителия находились в состоянии глубокой дистрофии, некробиоза и некроза, что свидетельствовало о длительно существующем воспалительном процессе в легочной ткани и стенке бронхов.

## ВЫВОДЫ

1. Цитологическое исследование трахеальных аспиратов отражает морфологическую и патогенетическую неоднородность дыхательных расстройств у глубоко недоношенных детей.

**Таблица 3.** Содержание полиморфноядерных лейкоцитов в мазках трахеальных аспиратов

Показатель	Дети с РДС	Дети с врожденной пневмонией	Дети с неонатальной пневмонией на фоне РДС
Среднее количество в поле зрения	1,4 ± 0,7	6,4 ± 4,7*	7,8 ± 5,7**
Разрушенные лейкоциты, %	0	60,5*	57,2**
Лейкоциты с незавершенным фагоцитозом, %	0	54,3*	56,1**

*Примечание.* Статистическая значимость различий между показателями ( $p < 0,01$ ): \* – I и II групп, \*\* – I и III групп.

2. У детей с врожденной пневмонией цитологическая картина трахеальных аспиратов характеризуется наличием бактериальной и вирусной флоры, признаками гибели клеток альвеолярного эпителия преимущественно в виде некробиоза и некроза, а также большим, чем при респираторном дистресс-синдроме, средним количеством полиморфноядерных лейкоцитов. При респираторном дистресс-синдроме в цито-

грамме число неизмененных альвеолоцитов значительно больше, чем при пневмонии; гибель же клеток респираторного эпителия осуществляется преимущественно путем апоптоза.

3. Указанные особенности клеточного состава трахеальных аспиратов могут служить дополнительным диагностическим критерием дыхательных расстройств у глубоко недоношенных детей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Возможности цитологического метода в диагностике дольчатого рака молочной железы / Н. Н. Волченко [и др.] // Новости клинической цитологии России. – 2003. – Т. 6, № 1–2. – С. 49–50.
2. Диагностический бронхоальвеолярный лаваж (методические рекомендации) / под ред. А. Г. Хоменко. – М., 1988.
3. Клейменова, Н. В. Морфологические различия дыхательных расстройств у новорожденных детей в первые сутки жизни по данным состава трахеобронхиальных смывов / Н. В. Клейменова, А. И. Клембовский // Арх. патологии. – 1999. – Т. 61, № 4. – С. 31–35.
4. Клинико-лабораторное значение иммуноцитохимического метода определения ИЛ1 в альвеолярных макрофагах в оценке достижения контроля над бронхиальной астмой / С. Н. Поспелова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 10. – С. 9.
5. Комплексные лабораторные исследования при профессиональных заболеваниях органов дыхания / Л. А. Иванов [и др.] // Пульмонология. – 2008. – № 4. – С. 26–28.
6. Особенности иммунного ответа слизистых оболочек дыхательных путей у недоношенных детей с пневмониями / М. В. Кушнарёва [и др.] // Педиатрия. – 2002. – № 1. – С. 13–18.
7. Перетятко, Л. П. Морфология плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела / Л. П. Перетятко, Л. В. Кулида, Е. В. Проценко. – Иваново : Изд-во «Иваново», 2005. – 384 с.
8. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – 3-е изд. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
9. Савостикова, М. В. Иммуноцитохимическое исследование в диагностике и оценке важнейших факторов прогноза злокачественных и доброкачественных образований : автореф. дис. ... канд. мед. наук / М. В. Савостикова. – М., 2007.
10. Филиппов, В. П. Бронхоальвеолярный лаваж при диффузных поражениях легких / В. П. Филиппов. – М. : Медицина, 2006. – 80 с.
11. Чичахов, Д. А. Гидрокортизон и фуросемид в лечении бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных с низкой и экстремально низкой массой тела : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д. А. Чичахов. – СПб., 2005. – 24 с.
12. Lamellar body count and stable microbubble test on tracheal aspirates from infants for the diagnosis of respiratory distress syndrome / A. C. Vieira [et al.] // *Pediatr. Crit. Care Med.* – 2012. – № 13(2), mar. – P. 178–182.
13. Stumph, F. The Bronchoalveolar lavage to day / F. Stumph // *Chest.* – 1981. – Vol. 3, № 80. – P. 251–258.