

Статья поступила в редакцию 25.02.2021 г.

DOI: 10.24411/2687-0053-2021-10008

#### Информация для цитирования:

Бондарев О.И., Бугаева М.С., Майбородин И.В., Лапий Г.А., Казицкая А.С. ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У ШАХТЕРОВ, ПОГИБШИХ В ТЕХНОГЕННЫХ КАТАСТРОФАХ // Медицина в Кузбассе. 2021. №1. С. 45-49.

**Бондарев О.И., Бугаева М.С., Майбородин И.В., Лапий Г.А., Казицкая А.С.**

НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний,

Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия,

Институт молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, Россия

## ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У ШАХТЕРОВ, ПОГИБШИХ В ТЕХНОГЕННЫХ КАТАСТРОФАХ

**Предмет исследования (наблюдения).** Вопросы раннего цитологического выявления кониотических изменений в бронхиальном эпителии.

**Цель исследования** – изучить цитологические изменения эпителия бронхов у шахтеров, погибших при техногенных катастрофах для выявления ранних прогностических признаков бронхолегочной пылевой патологии как фактора профилактики пневмокониоза.

**Методы исследования.** Цитологическое исследование мазков-отпечатков, промывных вод и иммуногистохимическое исследование мазков бронхиального секрета в аспекте ранней постановки диагноза пневмокониоза. Основное внимание уделяется выявлению общих и специфических элементов в структуре клеточных сообществ, полученных при цитологическом исследовании.

**Основные результаты.** Ранним диагностическим методом исследования может быть цитология, при которой признаком развивающегося пневмокониотического процесса в ранней доклинической стадии является обнаружение в бронхиальных мазках-отпечатках, бронхоальвеолярном лаваже резкого увеличения количества, размеров и «нагруженности» пылевыми частицами цитоглазмы альвеолярных макрофагов (так называемых «пылевых клеток» или «кониофагов»), наличие дистрофии и плоскоэпителиальной метаплазии бронхиального эпителия. Достоверным показателем пневмокониоза являются объемные изменения макрофагов у шахтеров с использованием экспрессии HAM-56. Усиление экспрессии хромоген-позитивного материала, а также максимальный объем макрофагов были характерной особенностью для работников угольной промышленности.

**Выводы.** Полученные цитологические данные следует использовать для раннего скрининга профессиональной бронхолегочной патологии при проведении профосмотров шахтеров и для более эффективного проведения ранней профилактики пневмокониоза.

**Ключевые слова:** пневмокониоз; цитологическое исследование; мазки-отпечатки; бронхо-легочная патология

**Bondarev O.I., Bugaeva M.S., Mayborodin I.V., Lapiy G.A., Kazitskaya A.S.**

Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases,

Novokuznetsk State Institute for Further Training of Physicians, Novokuznetsk, Russia,

Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

### CYTOLOGICAL ASSESSMENT OF CHANGES IN THE BRONCHIAL EPITHELIUM IN MINING MINING DEALS IN MAN-GENERAL DISASTERS

**Objective:** To study cytological changes in bronchial epithelium in miners who died in technogenic disasters to identify early prognostic signs of bronchopulmonary dust pathology as a factor in the prevention of pneumoconiosis.

**Methods.** Cytological examination of smears-prints, wash water and immunohistochemical examination of smears of bronchial secretions in the aspect of early diagnosis of pneumoconiosis. The main attention is paid to the identification of general and specific elements in the structure of cell communities obtained by cytological research.

**Results.** An early diagnostic method of research can be cytology, in which signs of developing pneumoconiosis of the process in the early preclinical stage is the detection in bronchial smears – prints, bronchoalveolar lavage of a sharp increase in the number, size and «loading» of dust particles in the cytoplasm of alveolar macrophages (the so-called «dust cells» or «coniophages»), the presence of dystrophy and flat epithelial metaplasia of the bronchial epithelium. A reliable indicator of pneumoconiosis is volumetric changes in miners using HAM-56 expression. Increased expression of the chromogen-positive material, as well as the maximum volume of macrophages, was a characteristic feature of coal workers.

**Conclusions.** The obtained cytological data should be used for early screening of occupational bronchopulmonary pathology during medical examinations of miners and for more effective early prevention of pneumoconiosis.

**Key words:** pneumoconiosis; cytological examination; smears-prints; broncho-pulmonary pathology

Кузнецкий угольный бассейн является крупнейшим угольным месторождением в мире. На его долю приходится 56 % от общего объема российской добычи угля, в том числе 81 % особо ценных коксующихся марок, а балансовые запасы угля, подсчитанные до глубины 600 м, составляют 60 млрд. тонн, из них 42,8 млрд. тонн – коксующиеся [1]. Кондиционные запасы каменного угля Кузбасса превышают все мировые запасы нефти и природного газа в пересчете на условное топливо в 7 раз и составляют около 695 млрд. тонн [2], причем угли Кузнецкого бассейна представлены всеми технологическими группами и марками, от бурых углей до антрацитов.

Стратегия развития минерально-сырьевой базы Российской Федерации до 2030 г. определяет неуклонно возрастающую добычу природных ресурсов, включая добычу угля.

При высокотехнологичной добыче полезных ископаемых профессиональная заболеваемость в Кемеровской области в целом остается одной из самых высоких в России и почти в 7-8 раз превышает уровень по России.

Патология органов дыхания остается наиболее важной и весомой причиной в развитии профессиональных заболеваний в угольно-рудодобывающих регионах и связана с длительным вдыханием угольно-породной пыли (УПП) – хронические пылевые бронхиты, пневмофиброз, эмфизема легких, пневмокониоз (ПК), которые и являются основной причиной высокой профессиональной заболеваемости в России.

Воздействие угольно-породной пыли на дыхательную систему шахтеров характеризуется развитием дистрофии, атрофии и склероза во всех структурах стенки бронхов, выявляемых при фибробронхоскопии уже на стадии «предбронхита». Эти бронхиальные изменения считаются первичными, принципиально отличаются от инфекционного хронического бронхита [3, 4].

Установлено, что длительное воздействие угольно-породной пыли приводит к развитию незаметно накапливающихся патологических изменений в бронхах и легочной паренхиме, которые вначале не имеют клинических проявлений [5].

При техногенных катастрофах всегда обнаруживаются признаки не только «хронического пылевого бронхита», но также пневмофиброза и пневмокониоза разной выраженности, которые в 70 % случаев прижизненно не диагностируются.

Поэтому поиск способов ранней диагностики доклинической (дорентгенологической) бронхолегочной пылевой патологии у шахтеров является весьма актуальной задачей.

**Цель исследования** – изучить цитологические изменения эпителия бронхов у шахтеров, погибших при техногенных катастрофах, для выявления ранних прогностических признаков бронхо-легочной пылевой патологии как фактора профилактики ПК.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучались мазки-отпечатки с поверхности слизистой оболочки бронхов, окрашенные по Папенгейму и гематоксилин-эозином. В работе использовался стандартный иммуногистохимический метод с применением мультимерной безбиотиновой системы детекции – REVEAL Biotin-Free Polyvalent DAB (производитель Spring Bioscience). Морфометрически определялись хромоген-позитивные элементы мышечного типа. Результаты иммуногистохимической реакции оценивались полуколичественным методом в 10 полях зрения микроскопа, по 100 клеток в каждом, при различном увеличении. При оценке материала учитывалась фенотипическая принадлежность клеток бронхиального эпителия. На основании имеющихся данных каждое свойство оценивалось по четырехбалльной шкале, где (+) означал минимальное проявление признака, (+++++) – максимальное.

Морфометрическое измерение прямо- и криволинейных размеров структурных компонентов и их площадей проводилось на микроскопе Nikon Eclipse E 200 с цифровой видеокамерой Nikon digital sight – Fi 1 с использованием компьютерной программы фирмы West Medica HandelsgmbH – Bio Vision 4.0, определяющей линейные размеры с точностью до 0,5 м. Морфометрически оценивалась площадь кониофагов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При цитологическом исследовании в бронхиальных мазках-отпечатках у шахтеров, по сравнению с нормой, достоверно уменьшается разнообразие клеточных элементов, резко увеличивается количество активно фагоцитирующих альвеолярных макрофагов (АМ) или усиливается дистрофия слущенных клеток, появляется и увеличивается число метаплазированных клеток эпителия, но при этом отсутствуют нейтрофильные гранулоциты, характерные для инфекционного бронхита.

Наиболее характерным в бронхиальных мазках-отпечатках у шахтеров было обнаружение очень большого числа АМ в виде клеток с несколькими ядрами и очень обильной цитоплазмой, в разной степени «загруженной» пылевыми и угольными частицами. В световом микроскопе они выглядят как буро-оранжево-черные «пятна» типа «нафаршированной кляксы» с остатками нуклеолеммы (так называемые «пылевые клетки» или «кониофаги»). В цитоплазме таких АМ, помимо черных и бурых зерен, также обнаруживаются многочисленные мелкие, округлые, непрозрачные и дымчато-серые частицы. Площади кониофагов были в контроле от 121,4 м<sup>2</sup> до 325,3 м<sup>2</sup> и составляли в среднем 172 м<sup>2</sup>, а у шахтеров – от 174,9 до 552,1 м<sup>2</sup>, в среднем 374,6 м<sup>2</sup>.

Для доказательства количественного и качественного различий макрофагального воспаления

при антракосиликозе от других патологических процессов нами была применена отдельная морфометрия макрофагов в группе шахтеров и контрольной группе с выраженным бактериальным воспалительным процессом неспецифического характера.

Таким образом, в среднем площадь макрофагов у шахтеров при пылевой нагрузке увеличивалась на 2,1 % при сравнении этих показателей с бактериальным воспалительным процессом. Данный показатель свидетельствовал о повышении функциональной активности макрофагов при пылевом воздействии. При этом, наряду с гистологическими признаками ПК, более показательные объемные изменения отмечались у шахтеров с использованием экспрессии НАМ-56. Усиление экспрессии хромоген-позитивного материала, а также максимальный объем макрофагов был характерной особенностью работников угольной промышленности при ПК (табл.).

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном макрофагальном воспалении на ранних этапах воздействия УПП с постепенным снижением макрофагальных реакций по мере увеличения сроков пылевого воздействия на организм и замещением этих реакций на склеротические изменения.

Для сравнения цитологических изменений, с целью подтверждения полученных результатов, нами были использованы гистологические параметры в участках легких с достоверной точкой приложения элементов макрофагальной клеточной системы. Изменения в легочной ткани характеризовались умеренно выраженным фиброзом в перибронхиальных зонах и периваскулярных областях с четким от-

ложением пылевых частиц и выраженной макрофагальной реакцией. Следует отметить определенную активность макрофагального воспаления в периваскулярных пространствах. Макрофагальное воспаление в перибронхиальных и периваскулярных зонах давало четкую положительную реакцию на НАМ-56, что подтверждало нашу точку зрения на правильность выбранного цитологического метода исследования, направленную на раннюю диагностику ПК у шахтеров.

Также, помимо регистрации количественных изменений макрофагов, частым проявлением ПК была дистрофия клеток бронхиального эпителия в мазках-отпечатках, к которым относится потеря ресничек и разрушение терминальной полоски; неравномерность рисунка ядерного хроматина, от разреженного до грубо-сетчатого и тяжистого рисунка в реснитчатых и бокаловидных клетках, и их вакуолизация; снижение интенсивности окрашивания, нечеткость контуров, вакуолизация и/или полное разрушение цитоплазмы; появление «голых» ядер и ядерных обломков. В ряде случаев цитоплазма клеток выглядит непрозрачной и неравномерно окрашенной, а в ядрах отмечается нарушение структуры хроматина в виде крупнопетливой сети из полиморфных грубых глыбок, с появлением пикноза, рексиса и лизиса ядер. При выраженных дистрофических изменениях клеток эпителия бронхов в мазках-отпечатках появляются многочисленные крупные «голые» ядра или ядра с узким нечетко контурированным ободком цитоплазмы (так называемая, «рваная» цитоплазма дистрофических клеток).

**Таблица**  
**Иммуно-гистохимические маркеры легочного гистиона**  
**Table**  
**Immuno-histochemical markers of pulmonary histion**

Элементы гистиона	Цитокератин (СК-7, СК-8, СК-18, СК-20) маркеры эпителиальной ткани	bcl-2 – белки проапопто- тической активности	Е и N – кадгерин- антитела межклеточной адгезии	Антитела к коллагену III типа	Антитела ЕМА для определения коллагенизации мышечной ткани	Макрофагальный антиген (НАМ56)	Ki-67 индекс пролиферативной активности	Антигены мышечного профиля (виментин, десмин, актин)	CD34 и CD31 фактор эндотелиальной функции
Эпителий бронхов	+++	-	++	-	-	-	-	-	-
Базальная мембрана бронхов	++	-	-	++	-	-	-	-	-
Гладкомышечная ткань стенки бронхов	-	-	+	++	++	-	-	++++	-
Межальвеолярные перегородки (МАП)	-	-	+	-	-	+++	-	-	+
Эндотелий сосудов легких	+	-	++	-	-	-	-	-	++++
Гладкомышечная ткань сосудов	-	-	-	-	+	-	-	++++	-
Перицитарные элементы сосудов	++	-	-	-	+	-	-	-	-
Зоны склероза	++	-	-	+	+	+	-	-	-
Мазки-отпечатки	+++	-	-	-	-	++++	-	-	-

Кроме общепатологических процессов, которые наблюдались в мазках-отпечатках при цитологическом исследовании, имелись достоверно значимые признаки плоскоклеточной метаплазии (наряду с обычными клетками бронхиального эпителия) в виде появления увеличенных клеток (крупнее базальной клетки) округлой, овальной и полигональной формы; с центрально расположенными ядрами, относительно крупными, овальными и округлыми, с ровными контурами и равномерным распределением мелкозернистого хроматина, содержащими одиночные ядрышки, иногда укрупненные. Цитоплазма этих клеток имеет четкие контуры, она полупрозрачная, базофильная или оксифильная в зависимости от окраски (иногда с характерным «стекловидным» блеском, интенсивно окрашенная, потерявшая «прозрачность», что указывает на ороговение), более обильная, чем в базальных клетках [6]. В мазках-отпечатках метаплазированные клетки эпителия бронхов располагаются поодиночке или в виде скоплений, нередко образуют однослойные пласты; часто в центре одного клеточного скопления видны цилиндрические клетки, а по краю скоплений располагаются группы метаплазированных клеток с центрально расположенными ядрами, напоминающими плоский эпителий, по мере их «созревания» отмечается увеличение размера клеток и их уплощение [6].

Следовательно, обнаруженное при цитологическом исследовании у шахтеров резкое увеличение количества, размеров и «нагруженности» пылевыми частицами цитоплазмы АМ (так называемых «пылевых клеток» или «кониофагов»), дистрофия и метаплазия бронхиальных клеток однозначно свидетельствует об имеющемся пневмокониотическом процессе, несмотря на отсутствие его клинических проявлений.

Является очевидным, что необходимо проводить цитологическое исследование мазков-отпечатков при бронхо-альвеолярном лаваже (БАЛ) при профосмотрах шахтеров, как одного из методов быстрой диагностики патологического процесса. Это позволит выявить ранние признаки развивающейся бронхо-легочной патологии и даст более объективные критерии установления диагноза пневмокониоза и его профилактики.

## ВЫВОДЫ

1. Ранним диагностическим методом исследования при пневмокониозе может быть цитология, при которой признаком развивающегося кониотического процесса в ранней доклинической стадии является обнаружение в бронхиальных мазках-отпечатках, бронхоальвеолярном лаваже резкого увеличения количества, размеров и «нагруженности» пылевыми частицами цитоплазмы альвеолярных макрофагов (так называемых «пылевых клеток» или «кониофагов»), наличие дистрофии и плоскоэпителиальной метаплазии бронхиального эпителия.

2. Достоверным показателем пневмокониоза являются объемные изменения альвеолярных макрофагов у шахтеров с использованием экспрессии НАМ-56. Усиление экспрессии хромоген-позитивного материала, а также максимальный объем макрофагов был характерной особенностью работников угольной промышленности.

3. Данные цитологии следует использовать для раннего скрининга профессиональной бронхолегочной патологии при проведении профосмотров шахтеров и для более эффективного проведения ранней профилактики пневмокониоза.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Mazikin VP. The coal industry of Russia and Kuzbass: state and prospects. In: *Life safety of enterprises in coal regions: the materials of reports of VI Int. scientific-practical conf.* Kemerovo, 2005. P. 3-8. Russian (Мазикин В.П. Угольная отрасль России и Кузбасса: состояние и перспективы //Безопасность жизнедеятельности предприятий в угольных регионах: матер. VI Междунар. науч.-практ. конф. Кемерово, 2005. С. 3-8.)
2. Kiselev YuP. Book of memory of the miners of Kuzbass. 1991-2000. Kemerovo: Letopis, 2001. 391 p. Russian (Киселев Ю.П. Книга памяти шахтеров Кузбасса. 1991-2000. Кемерово: Летопись, 2001. 391 с.)
3. Naumova LA, Pushkarev SV, Belov IYu, Pautova YaV. Atrophic bronchopathy as a structural and functional marker of dis-regenerative processes in the bronchial mucosa. In: *Medical and biological aspects of multifactorial pathology: the materials of reports the Russian scientific conference with international participation.* Kursk, 2006. P. 334-338. Russian (Наумова Л.А., Пушкарев С.В., Белов И.Ю., Паутова Я.В. Атрофическая бронхопатия как структурно-функциональный маркер дисрегуляторных процессов в слизистой оболочке бронхов //Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии: матер. Рос. Науч. конф. с междунар. участием. Курск, 2006. С. 334-338.)
4. Nepomnyashikh GI. Bronchial biopsy: morphogenesis of general pathological processes in the lungs. M.: RAMS Publishing House, 2005. 384 p. Russian (Непомнящих Г.И. Биопсия бронхов: морфогенез общепатологических процессов в легких. М.: Изд-во РАМН, 2005. 384 с.)
5. Bondarev OI. Pathological anatomy of changes in the air-conducting, hemodynamic and respiratory systems of the lungs in miners: methodical recommendations. Novokuznetsk, 2010. 34 p. Russian (Бондарев О.И. Патологическая анатомия изменений воздухопроводящей, гемодинамической и респираторной систем легких у шахтеров: методические рекомендации. Новокузнецк, 2010. 34 с.)
6. Shapiro NA. Cytological diagnostics of lung diseases: color atlas. M.: Reprocenter, 2005. 208 p. Russian (Шапиро Н.А. Цитологическая диагностика заболеваний легких: цветной атлас. М.: Репроцентр, 2005. 208 с.)

**Информация о финансировании и конфликте интересов**

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Сведения об авторах:**

БОНДАРЕВ Олег Иванович, канд. мед. наук, доцент, зав. НИЛ патологической анатомии, зав. кафедрой патологической анатомии и судебной медицины, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; ст. науч. сотрудник, лаборатория охраны здоровья работающего населения, ФГБНУ НИИ КППГЗ, г. Новокузнецк, Россия.  
E-mail: gis.bondarev@yandex.ru

БУГАЕВА Мария Сергеевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, ФГБНУ НИИ КППГЗ; ст. науч. сотрудник, НИЛ патологической анатомии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия.

МАЙБОРОДИН Игорь Валентинович, доктор мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник – руководитель лаборатории цитологии и клеточной биологии Института молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, Россия.

ЛАПИЙ Галина Анатольевна, доктор мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник – руководитель лаборатории общей патологии и патоморфологии, Институт молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, Россия.

КАЗИЦКАЯ Анастасия Сергеевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, ФГБНУ НИИ КППГЗ, г. Новокузнецк, Россия.

**Information about authors:**

BONDAREV Oleg Ivanovich, candidate of medical sciences, docent, head of the research laboratory of pathological anatomy, head of the department of pathological anatomy and forensic medicine, Novokuznetsk State Institute for Advanced Training of Doctors; senior researcher, laboratory of working population health protection, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia. E-mail: gis.bondarev@yandex.ru

BUGAEVA Maria Sergeevna, candidate of sciences in biology, senior researcher, laboratory of molecular genetic and experimental research, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases; senior researcher, research laboratory of pathological anatomy, Novokuznetsk State Institute for Advanced Training of Doctors, Novokuznetsk, Russia.

MAYBORODIN Igor Valentinovich, doctor of medical sciences, professor, chief researcher – head of the laboratory of cytology and cell biology, Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal State Budgetary Scientific Institution FRC FTM, Novosibirsk, Russia.

LAPIY Galina Anatolyevna, doctor of medical sciences, professor, chief researcher – head of the laboratory of general pathology and pathomorphology, Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal State Budgetary Scientific Institution FRC FTM, Novosibirsk, Russia.

KAZITSKAYA Anastasia Sergeevna, candidate of biological sciences, senior researcher, laboratory of molecular genetic and experimental research, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia.

**Корреспонденцию адресовать:** БОНДАРЕВ Олег Иванович, 654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, д. 23, ФГБНУ НИИ КППГЗ

E-mail: gis.bondarev@yandex.ru