Военно–медицинская академия

“ Мокрота. Исследование трахеобронхиального содержимого (ТБС)”

Санкт-Петербург

1999 г

Введение.

Многозначные возможности экзогенного фильтра легких обеспечивают стерильность бронхиального и, особенно, бронхоальвеолярного секрета у здоровых людей колеблется в широких пределах: за сутки его объем может доходить до 150 мл. Однако это остается практически незаметным, так как постоянно продвигающийся поток бронхиальной слизи, доходя до глотки, рефлекторно заглатывается. Трудность в получении бронхиального секрета у здоровых лиц остается нераспознанными вопросы о биохимическом составе и интенсивности его образования при воздействии физических и химических факторов. Для суждения о нормальном содержимом бронхов используют раздражающие ингаляции растворами хлорида натрия, йодида калия, бикарбоната натрия или промывные воды бронхов. Правильность диагностической интерпретации лабораторного исследования мокроты во многом зависит от соблюдения правил сбора этого биологического объекта.

Содержание.

I Гистологическое строение

1. Клетки бронхиального эпителия

Слизистый характер бронхиального секрета обусловлен сочетанным функционированием под слизистых желез и бокаловидных клеток. Хотя количество клеток этих желез превосходит в 40 раз число бокаловидных клеток, объем секрета выделяемого последними может в ряде случаев увеличиваться и превышать секрецию желез. Гистохимически и электронномикроскопически оба вида клеток сходны по внешнему виду, однако бокаловидные клетки имеют много электронно- контрастных гранул, хорошо развитый эндоплазматический ретикулум

и аппарат Гольджи; у секреторных клеток гранулы меньшего размера. В трахее у человека определяется в среднем одна подслизистая железа на 1 мм. Каждая железа состоит из трубочек двух типов – слизистых секреторных трубочек длинной 0.5 мм, выстланных слизистыми клетками, выходящими непосредственно в коллекторный проток , и серозных трубочек, около 0.8 мм длинной , выстланных серозными клетками и открывающимися в слизистые трубочки. Собирательный канал каждой железы покрыт цилиндрическим эпителием, за исключением участков , приближающихся к поверхности, состоящих из цилиарных клеток. Проток там расширяется в виде ямки в эпителии. В глубине, среди секреторных и слизистых трубочек, встречается много эпителиальных клеток. Можно предположить, что сокращение этих клеток способствует опорожнению секреторных клеток и железы в целом. С помощью электронной микроскопии в железах выявлены нервные волокна, которые, видимо, относятся к парасимпатическим двигательным нервам. Наличие клеток с плотным ядром рассматривается как подтверждение присутствия симпатической (адренергической) иннервации, наряду с парасимпатической (холинергической) .

Наибольшее количество бокаловидных клеток встречается в трахее и крупных бронхах; их совсем нет в бронхиолах. Сходство бокаловидных клеток со

слизистыми клетками подслизистых желез зависит от наличия у обоих видов клеток электронно-плотных гранул. Серозные клетки схожи с клетками серозных трубочек подслизистых желез. Возможно превращение этих клеток в бокаловидные при развитии хронического бронхита.

Наличие двойной иннервации (адренергической и холинергической ) находящей подтверждение в исследованиях с использованием стимуляции симпатических нервов (введение изопрналина) и последующей блокады этого влияния (введение пропранолола) . Результаты этих исследований свидетельствуют о существовании бетта-рецепторов в клетках бронхиальных путей. Известно из ряда экспериментов,

что препараты ацетилхолинового действия усиливают секрецию, а их антагонисты блокируют образование секрета. Установлено, что простогландин П Г Е , является стимулятором секреции слизи, но не оказывает заметного действия на частоту колебаний ресничек. Из других исследований показано, что стимуляцию секреции и повышение синтеза гликопротеидов можно наблюдать при синтезе гистамина, а также холинэргического стимулятора метахолина.

II Трахеобронхиальное содержимое (ТБС).

1. Биохимический состав трахеобронхиального секрета.

Вода является наиболее значительной фракцией бронхиальной слизи, составляя 92% ее. Она представлена двумя формами- свободной и связанной, преимущественно с гидрофильными группами полианионных цепей муцинов. Вода может содержать растворенными местно синтезируемые белки и белки плазмы, ионы натрия, калия, хлора и др. Считают, что большая часть жидкости бронхиального секрета имеет сосудистое происхождение; однако, механизмы, контролирующие секрецию и реабсорбцию воды, мало изучены. Существование реабсорбции кажется вполне реальным, ибо поверхность бронхов и бронхиол примерно в 2000 раз больше трахеи. В результате деятельности реснитчатого эпителия слизистый покпов перемещается от мельчайших бронхов до трахеи и глотки. Это обеспечивает так называемый мукоцилиарный клиренс (очищение), т.е. выведение из респираторного тракта ингалированных частиц, бактерий и продуктов метаболизма. В ряде исследований показано, что на уровне трахеи контроль за движением воды выполняют серозные клетки подслизистых желез посредством двух внутриклеточных насосов: одного, основного, способствующего прохождению ионов хлора в направление бронхиального просвета, и другого-имеющего отношение к регуляции реабсорбции ионов натрия. Действие некоторых медиаторов, например, ацетилхолина, возможно, связано с поступлением ионов хлора в просвет бронхов и прохождением воды через эпителиальную мембрану.

В защитных механизмах бронхов важная роль принадлежит муцинам благодаря их физико-химическим свойствам, необходимым для эффективного продвижения бронхиального секрета по мукоцилиарному «эскалатору». Будучи полианионными веществами, они могут осуществлять регуляцию концентрации воды и ионов, создавать оптимальные условия для обезвреживания микроорганизмов с участием клеточных факторов защиты.

Слизь ТБС- среда, в которой действуют системы специфической и неспецифической иммунной защиты организма. Здесь находятся клетки «быстрого» реагирования, к которым относятся тучные клетки и альвеолярные макрофаги. Изменения в ТБС носят, прежде всего, приспособительный характер, направленные на уменьшение действия повреждающего агента (микроба, механического фактор и др.). Так, происходит увеличение секрета для «разбавления» агента, т.е. увеличение объема ТБС. Отек слизистых дыхательных путей с транссудацией жидкости в их просвет снижает эндоцитоз ТБС с последующим развитием склероза тканевого матрикса.

Важнейшим компонентом ТСБ является сурфактант. Он образует комплексымуцины- сульфаты Бронхиальные муцины составляют 60-70 процентов сухого вещества слизи определяя ее фибрилярную структуру Обладая высокой относительной молекулярной массой (400тысяч-5милионов Да)муцины состоят из гликановых цепей(ГАГ-гликозо-аминогликаны)Выделяют три класса муцинов: смоло муцыны(наличие на конце N-ацетил нейраминовой к-ты) сульфамицины и нейтральные фукомицины. Муцины обеспечивают фиксацию воды,ионов,белков и др.компонентов. Они адсорбируют компоненты кининовой системы ,что обуславливает их противовоспалительный эффект. Известна концепция двухслойной слизи трахеобронхиального дерева. Так поверхностный слой более плотный и вязкий.Он касается толь верхушек ресничек эпителия. Гель-часть мокроты состоит из длинных эластических нитей (кислых гликопротеинов, содержащих остатки серных кислот). Отрицательные концы имеров этих ГАГ (гепаринсульфаты, хондроитинсульфаты и др.) взаимно отталкиваются, образуя «узелки»-«комочки». Они включают ДНК и РНК из ядер разрушенных клеток. Золь- часть мокроты, электролиты натрия, калия, хлориды и др. По данным реологических исследований (вязкость, текучесть, эластичность) мокроту можно сравнить с многокомпонентным коллоидным раствором, в состав которого входят высокомолекулярные соединения.

1. Защитная функция эпителия бронхов.

Выведение ТБС- один из основных механизмов защиты респираторного тракта. Например, ингалированная частица (микроб, пылинка и др.) вместе со слизистым покрытием проходит мимо 10 клеток слизистой за 1 сек. Следовательно, время контакта микроорганизма с каждой эпителиальной клеткой составляет 1/10 сек. Таким образом, это затрудняет инвазию микроорганизма в клетку. Рассматривая вопрос о защитной функции эпителия бронхов, необходимо остановиться на результатах обследования компонентов содержимого бронхов, т.е. бронхоальвеолярного лаважа и сыворотки здоровых людей. Используя методы электрофоретического разделения в ПААГе и радиальной иммунодиффузии, принципиальных различий не было выявлено. Однако, обнаружено, что содержание иммуноглобулинов A и G, а также трансферина было более высоким в содержимом бронхов, чем в сыворотке крови. Рассматривается вероятность местного синтеза некоторых из них. По данным ряда авторов, количество иммуноглобулинов A и G в жидкости бронхоальвеолярного лаважа при обострении хронического неспецифического заболевания легких (ХНЗЛ) возрастает в 2,25 раза. Однако, не исключено и плазменное происхождение некоторых белковых компонентов ТБС. Наиболее значительную фракцию составляют секреторные иммуноглобулины As (IgAs). Они отличаются от плазменных высокой относительной молекулярной массой (около 390 тыс.). Считают, что IgAs синтезируются в лимфоплазмоцитарных образованиях; при выходе в просвет бронхов происходит их комплексование с секреторными гликопротеидами. Такие комплексы более устойчивы к воздействию протеолитических ферментов. Некоторые авторы полагают, что уменьшение секреции IgAs и увеличение продукции нейтральных фукомуцинов отражают снижение защитной функции эпителия бронхов. Контроль за содержанием этих компонентов в бронхиальном содержимом позволяет следить за эволюцией хронического бронхита. В секрете бронхов определяют альбумины, трансферин, α-антитрипсин. Из них только трансферин относят к секреторным компонентам. При хроническом бронхите, кроме этих белков, встречаются орозомукоид, α2-макроглобулин, имеющие плазменное происхождение. По мнению ряда исследователей, местно синтезируемые α1-химотрипсин; его содержание возрастает одновременно с повышением IgAs. Отмечено, что содержание α1-химотрипсина и IgAs увеличивается при лечении глюкокортикоидами.

1. Протеазы и ингибиторы ТБС и сыворотки крови в норме и при патологии легких .

Физиологически связанной системой является соотношение протеаз и их ингибиторов. Такой баланс существует в сыворотке крови, где основным ингибитором является А-антитрипсин . Его содержание составляет 75-90% от общего ингибиторного потенциала сыворотки. В бронхиальном содержимом помимо плазменного А-антитрипсина , ингибиторную функцию выполняют местно синтезируемые ингибиторы. Причем, если 10-20% приходится на А-антитрипсин , остальную часть составляют ингибиторы протеолиза. В мокроте были выделены два ингибитора : один кислотостабильный ингибитор с молекулярной массой 14-21 тыс, а другой- низкомолекулярный, не обладавший, в отличие от предыдущего антигенной общностью с интер- А-ингибитором трипсина сыворотки. Иммунохимическими исследованиями показано, что плотность клеток ,секретирующих низкомолекулярный ингибиторпротеиназ, увеличивается в дистальном направлении. Секреция ингибиторов на уровне бронхиол должна расцениваться как важный фактор защиты респираторных отделов легких от протеиназ нейтрофилов и альвеолярных макрофагов. Таким образом, появление в дыхательных путях инфекционных агентов вызывает пролиферацию клеток, гиперсекрецию, увеличение количества полиморфноядерных нейтрофилов и, одновременно с этим повышается активность протеаз. Это естественные механизмы защиты. Протеолитические ферменты способствуют разрушению микроорганизмов, расщеплению крупных макромолекулярных комплексов, которое улучшает условия транспорта и элиминации продукта распада бактерий. Полиморфноядерные нейтрофилы являются источником эластазы, колаагеназы, трипсиноподобного фермента. Активность эластазы возрастает при щелочной и снижается- при кислой реакции среды. Повышение величины активности фермента соответствует высокому титру микроорганизмов. Среди факторов защиты бронхов следует сказать о лизоциме. Он чаще находится в комплексе с муцинами мокроты. Уровень лизоцима легких возрастает при повышении протеолитической активности.

В бронхиальном секрете обнаружены также свободные и связанные сиаловые кислоты. Степень активности воспаления можно связать с возрастанием сиаловых кислот. В условиях воспаления и повышенной проницаемости бронхиального эпителия у больных хроническим бронхитом «пропотевание» бронхов и вызывает, таким образом, усиление синтеза муцинов, повышение вязкости мокроты и, в целом,- гиперсекрецию.

1. Исследование ТБС при воспалении. Роль клеток респираторного тракта.

В ответ на инвазию инфекционными агентами, эпителий бронхов выделяет цитокины IL-8, IL-6, т.е. факторы стимуляции колониеобразующих гранулоцитов, моноцитов, и др. Так, тучные клетки выделяют хемотаксические факторы «быстрого реагирования»: эозинофильный хемотаксический фактор анафилаксии; хемотаксический фактор нейтрофилов высокой молекулярной массы; хемотаксические факторы, направленные на лимфоциты, базофилы, моноциты; фактор, активирующий тромбоциты (ФАТ). Усиливается синтез и выделение Пг, Тх А2, Пц (простациклинов). Увеличивается содержание альвеолярных макрофагов в ТБС. У них свои функции: фагоцитоз, переработка антигена и «передача» продуктов лимфоцитам, предотвращение развития аллергических реакций. Далее, иммунная защита, т.е. усиление иммунного ответа; секреторная активность, в частности является индукторами микроваскулярного просачивания и секреции слизи.

III . Реологические свойства мокроты.

1. Сбор мокроты. Макроскопическое исследование. Как правило, сбор мокроты производят утром, натощак. Первая порция- ТБС исследуется в первые 2-3 часа. Для усиления сбора мокроты производится ингаляция 10% раствором хлорида натрия и 1-2% раствором йодистого калия. При макроскопическом исследовании мокроты учитывается ее количество (в норме от 1 до 800 мл в сутки). При патологии – количество мокроты указывает на ухудшение или улучшение состояния больного . Важным исследованием считается опроеделение консистенции мокроты. Различают жидкую, густую, вязкую мокроту. При усиленном отделении мокроты она разделяется на три слоя: верхний(пенистый) из слизисто-гнойных комков;средний-мутноватая желто-зеленая жидкость; и, наконец, нижний слой- непрозрачная масса желтоватого цвета. Чаще это наблюдается при бронхите(гнилостном),гангрене легких, бронхоэктазах и т. д. Возможно разделение мокроты на два слоя. Это бывает при абсцессах легких, когда верхний слой представляет серозную жидкость,а нижний- непрозрачная зеленовато-желтоватая гнилостная масса, содержащая клеточные элементы. Цвет мокроты имеет важное диагностическое значение. В норме у здоровых людей мокрота светлая и прозрачная. Наличие желтоватого оттенка наблюдается при присутствии в мокроте гноя и эпителия. Зеленоватый цвет мокроты свидетельствует о присутствии гноя в результате распада эритроцитов и лейкоцитов. Ярко-желтый цвет мокроты (канареечный) наблюдается привысоком содержании эозинофилов (синдром Леффлера) или при атопическом

варианте бронхиальной астмы. “Ржавый” цвет мокроты наблюдается при крупозной пневмонии в результате высокого содержания гематина. “Шоколадная” мокрота отмечается у больных абсцессом и гангрене легких. “Черный” цвет мокроты зависит от примеси в ней частиц угля при превмокониозе.

Характер мокроты, т.е. виды ее.

Наблюдается слизистая мокрота, тягучая, вязкая при остром и хроническом бронхите, бронхиальной астме и туберкулезе. Такая мокрота цвета не имеет. Встречается гнойная мокрота без примеси слизи. Такая мокрота встречается редко: при гангрене легких, пневмониях, абсцессе легких, актиномикозе, бронхоэктазиях. Другой вид мокроты – слизисто-гнойная – встречается часто (слизь + гной): при хроническом бронхите, абсцессе легких, бронхопневмонии, гангрене легких. Кровянистая мокрота с прожилками или сгустками крови наблюдается у больных инфарктом легких, туберкулезе, раке, тромбоэмболии легочной артерии. Серозная мокрота встречается при отеке легких, а серозно-гнойная – при абсцессе легкого. Запах мокроты – важный показатель. Обычно мокрота не имеет запаха. Однако, при воспалительных процессах (абсцесс легкого, туберкулез, гангрена легких и т.д.) возникает гнилостный запах. Патологические примеси в мокроте. В чашке Петри можно наблюдать следующие примеси в мокроте: прожилки крови, спирали Куршмана («слепки» мелких бронхов при бронхиальной астме); линзы Коха («рисовые» тельца при туберкулезе, содержащие эластические волокна; холестерин); пробки Дитриха (комочки из бактерий, продуктов клеточного распада) при бронхоэктазиях, абсцессе легких гангрене легких; фибриновые сгустки (пленки с древовидным разветвлением при туберкулезе, пневмониях); крупинки («манная» крупа из друз актиномицетов при эмфиземе легких); бронхолиты (легочные камни) из некротической, обезиствленной ткани в крупных бронхах и полостях; элементы эхинококка, т.е. обрывки оболочки пузыря, головка эхинококка; легочная двуустка- паразит размером от 7 до 13 мм, толстый, яйцевидный; личинки аскариды длиной 1,5-2 мм, а также чужеродные тела, т.е. ингалированные предметы (горошины, пуговицы).

1. Микроскопическое исследование мокроты.

Производят исследование нативного препарата (от 5 до 10 экземпляров) мокроты с помощью иглы и покровного стекла. Фиксируют после высыхания мазка мокроты метиловым спиртом в течение 10 мин. Затем окрашивают по Граму или по Романовскому-Гимзе. Клеточные элементы мокроты. Возможно обнаружение следующих клеток: эпителиальные клетки, или клетки цилиндрического мерцательного эпителия,(при бронхитах легких, бронхиальной астме или злокачественных новообразованиях легких); бокаловидные клетки (при усиленной секреции); базальные или промежуточные клетки; альвеолярные макрофаги из нижних респираторных отделов. При инфаркте легкого, застое в малом кругу кровообращения обнаруживаются «клетки сердечных пороков», т.е. альвеолярные макрофаги с включениями гемосидерина. Они выявляются с помощью реакции на «берлинскую лазурь». Встречаются также и макрофаги с липидными включениями (липофаги) при туберкулезе, хроническом заболевании легких. Отмечают повышение в мазке мокроты количества нейтрофилов, лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов, «гигантских» клеток Пирогова- Лангерганса. В мазке мокроты могут встречаться волокнистые образования: эластические волокна, фибриновые волокна и спирали Куршмана (при туберкулезе, абсцессе легкого, раке). Кристаллические образования также встречаются в мазке мокроты. Это кристаллы Шарко-Лейдена, вместе с эозинофилами или из белковых продуктов деградации эозинофилов (при бронхиальной астме, эмфиземе, глистных инвазиях); кристаллы гематоидина (ромбы, иголки, звезды от желтого до оранжевого цвета, при некрозе ткани, кровоизлияниях при инфаркте легкого) кристаллы холестерина (при распаде ткани- туберкулез, абсцесс легкого, рак); друзы актиномицетов.

IV Дифференциально-диагностические методы исследования ТБС при некоторых заболеваниях.

1. Исследования при бронхиальной астме.

Как правило, у больных бронхиальной астмой мокрота белая, слизеподобная, не содержит крови. Встречаются эозинофилы, при инфекциях- нейтрофилы, моноциты и гистиоциты. Повышение гистиоцитов в мокроте может прогнозировать наступление выздоровления. Клетки бронхиального эпителия- единичные, иногда имеют вакуолизированную цитоплазму (тельца Креола), встречаются единичные бокаловидные клетки. Повышение в мокроте телец Креола- плохой прогностический признак, свидетельствующий о деградации и деструкции эпителиальных клеток при усиленной отслойке эпителия. Отмечается также повышенная гидратация мокроты с низким содержанием органических и неорганических веществ (Na, K, Cl), но с высоким содержанием кальция. Спирали Куршмана также встречаются в мокроте. Диагноз бронхиальной астмы ставится по комплексному исследованию мокроты.

1. Исследования при хроническом бронхите.

Количество мокроты у больных хроническим бронхитом может быть небольшим (до 60 мл/сут). Мокрота белая, вязкая, слизистая с высоким содержанием моноцитов и гистиоцитов, что указывает на стабильную фазу заболевания. При обострении воспалительного процесса эти клетки исчезают. Когда организм вступает в фазу ремиссии, они вновь появляются. В разгар заболевания высока активность фермента ЛДГ в мокроте, а также увеличивается содержание в ней нейтрофилов и эпителиальных клеток. Повышается содержание цитокинов, генераторами которых являются нейтрофилы. Обнаружены активные формы кислорода: О2•— (супероксиданион), ОН+, Н2О2, НО2•, что свидетельствует о повышенной активности прооксидантной системы. Высока активность протеаз (эластазы, катепсинов, химазы тучных клеток). Повышена активность

Заключение

Мокрота, бронхиальный секрет, обладает сложными реологическими свойствами, т.е. способностью к текучести, зависящей от вязкости и эластичности. Исследование бронхиального секрета необходимо в основном при легочной патологии для оценки состояния бронхиального дерева. Часть реологических свойств мокроты больных сопоставляются с рядом других показателей: содержание муцинов и секреторного Jg A, концентрацией сиаловых кислот, уровнем белка и рН мокроты.

Реологические свойства мокроты влияют на показатели вентиляции и газообмена.

Однако, решающим в вопросе влияния реологических свойств мокроты, кроме показателей вентиляции и газообмена, видимо, является состояние мукоцилиарного транспорта. Рассматривая в совокупности реологию, биохимический состав и мукоцилиарный транспорт, правильнее говорить об интегральной по своему характеру выделительной функции всего бронхиального дерева.

Литература.

1. Н. В. Сыромятникова, В. А. Гончарова, Т. В. Котенко. Метаболическая активность легких. Л., «Медицина», 1987.
2. Гончарова В. А. Биохимические аспекты тучной клетки. Проблемы пульмонологии, 1985, вып. 9, стр. 8-87.
3. Марри Р., и др. Биохимия человека. «Мир», 1993, т.1, стр. 225-287
4. Медицинская лабораторная диагностика. Справочник (под ред. профессора А. И. Карпищенко). С.-Пб., 1997, стр. 228-244.

Составила доцент Гавриленко И. С.