

Функциональные и цитохимические особенности фагоцитов у больных туберкулезом легких

Филинюк О.В., Земляная Н.А., Уразова О.И., Стрелис А.К., Лукьянова Т.А., Воронкова О.В., Буйнова Л.Н., Есимова И.Е., Сеницына В.А.

Functional and cytochemical particularities of phagocytes at patients with pulmonary tuberculosis

Filinyuk O.V., Zemlyanaya N.A., Urazova O.I., Strelis A.K., Lukyanova T.A., Voronkova O.V., Buynova L.N., Yesimova I.Ye., Sinitsina V.A.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Филинюк О.В., Земляная Н.А., Уразова О.И. и др.

Изучены показатели метаболической и функциональной активности фагоцитов периферической крови у больных туберкулезом легких до начала лечения и после двух месяцев традиционной противотуберкулезной терапии. На начало лечения установлено значительное угнетение неспецифической резистентности организма, что выражалось снижением уровня моноцитов, несущих Fcγ- и C3b-рецепторы, процента активных нейтрофилов и показателя завершенности фагоцитоза. При цитохимическом исследовании установлено увеличение активности миелопероксидазы в моноцитах, кислой фосфатазы и неспецифической эстеразы – в моноцитах и нейтрофилах. После двух месяцев традиционной противотуберкулезной терапии динамических изменений данных показателей не выявлено.

Ключевые слова: туберкулез легких, нейтрофилы, моноциты, фагоцитоз.

Indices of metabolic and functional activity of peripheral blood phagocytes have been studied at patients with pulmonary tuberculosis before the treatment and after two months of traditional antituberculous therapy. At the beginning of the treatment a significant depression of nonspecific resistance of organism has been found that had been expressed by the decrease of monocyte level carrying Fcγ- and C3b-receptors, active neutrophil percentage and phagocytosis completeness index. During cytochemical investigation there has been found an increase of myeloperoxidase activity in monocytes, of acid phosphatase – in monocytes and neutrophils. Any dynamic changes in these indices have not been found after two months of traditional antituberculous therapy.

Key words: pulmonary tuberculosis, neutrophils, monocytes, phagocytosis.

УДК 616.24–002.5:611–018.53

Введение

Туберкулез легких (ТЛ) продолжает оставаться одной из наиболее распространенных инфекций в мире и представляет огромную опасность для здоровья населения. В последние годы туберкулез стал характеризоваться выраженной тенденцией к прогрессированию, быстрым развитием каверн, полирезистентностью возбудителя болезни к противотуберкулезным лекарствам [5, 6, 8]. Данные явления имеют целый ряд причин.

К ним в первую очередь относится изменение биологических свойств возбудителя, а также реактивности больного организма, его способности отвечать на инфекцию. Центральным исполнителем инструментом в борьбе с болезнетворными бактериями являются, как известно, фагоцитирующие клетки,

несостоятельность которых во многом определяет развитие структурно-функциональных нарушений организменных защитных систем и в конечном итоге ведет к снижению противoinфекционной устойчивости макроорганизма [4, 9].

Целью настоящего исследования явилось изучение метаболического и функционального статуса фагоцитов периферической крови у больных ТЛ.

Материал и методы

Обследовано 18 первичных больных ТЛ (ранее не получавших противотуберкулезной терапии), а также 13 пациентов в динамике антимикобактериальной терапии (через 2 мес лечения).

Диагноз ТЛ устанавливали на основании данных микроскопии мокроты с обязательным рентгенологическим исследованием легких для определения формы заболевания и распространенности специфического процесса (общепринятые методы). Обследованные пациенты – мужчины и женщины в возрасте 23–55 лет с распространенным деструктивным специфическим процессом: у 16 человек был диагностирован инфильтративный ТЛ в фазе распада одной или нескольких долей с деструктивным засевом в нижележащие отделы легкого и в противоположное легкое, у 15 – распространенный диссеминированный ТЛ в фазе распада. Контрольную группу составили 26 здоровых доноров (мужчины и женщины в возрасте 18–55 лет).

Материалом для исследования служила периферическая кровь. Забор крови производили из локтевой вены утром натощак. Количественные показатели периферической крови исследовали общепринятыми в гематологии методами [1, 3]. Мазки периферической крови готовили с помощью метода лейкоконцентрации венозной крови (с трилоном Б) [3]. Определение активности миелопероксидазы в нейтрофилах и моноцитах проводили бензидиновым методом, кислот фосфатазы – по методу Goldberg, Barka, неспецифической эстеразы – по Naughe, Quaglini. Для количественного выражения результатов рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) [7].

Определение Fcγ-рецепторов моноцитов проводили методом ЕА-розеткообразования, С3b-рецепторов – методом ЕАС-розеткообразования. Поглотительную способность моноцитов оценивали по интенсивности захвата клетками частиц нейтрального красного ме-

тодом фотоколориметрии при длине волны 540 нм (результаты выражали в единицах оптической плотности – ед. опт. пл.) [1, 2, 9].

Для оценки фагоцитарной способности нейтрофильных гранулоцитов использовали метод бактериального фагоцитоза со *Staphylococcus aureus* Н-209. Подсчитывали процент активных нейтрофилов, поглотительную способность нейтрофилов и показатель завершенности фагоцитоза [3].

Статистическую обработку результатов в случае согласия данных с нормальным распределением проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок, при его отсутствии применяли непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного исследования показали, что у больных ТЛ до начала противотуберкулезной терапии имело место повышенное содержание сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов при одновременном снижении количества палочкоядерных форм клеток и лимфоцитов в крови по сравнению с таковыми у здоровых доноров (табл. 1). Через 2 мес после курса интенсивной химиотерапии число сегментоядерных нейтрофилов нормализовалось, количество незрелых нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитарных клеток сохранялось ниже нормы. Кроме того, в данный период исследования регистрировалось существенное увеличение численности эозинофильных лейкоцитов по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1

Показатели периферической крови у больных туберкулезом легких, $\bar{X} \pm m$

Показатель	Контрольная группа (<i>n</i> = 26)	Больные ТЛ	
		До лечения (<i>n</i> = 18)	Через 2 мес лечения (<i>n</i> = 13)
Общее количество лейкоцитов, $\cdot 10^9/\text{л}$	$7,68 \pm 0,61$	$8,15 \pm 0,54$	$7,31 \pm 0,81$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$4,11 \pm 0,44$	$1,50 \pm 0,78$ $p_1 < 0,01$	$2,00 \pm 0,60$ $p_1 < 0,05$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$47,35 \pm 2,06$	$66,50 \pm 1,48$ $p_1 < 0,001$	$50,25 \pm 4,80$ $p_2 < 0,01$
Эозинофилы, %	$2,23 \pm 0,35$	$2,00 \pm 0,76$	$12,00 \pm 3,36$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
Лимфоциты, %	$40,73 \pm 2,04$	$23,00 \pm 2,12$ $p_1 < 0,001$	$28,50 \pm 4,46$ $p_1 < 0,01$
Моноциты, %	$5,23 \pm 0,52$	$7,00 \pm 0,71$	$7,25 \pm 1,15$

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 p_1 – достоверность различий по сравнению с аналогичным показателем у здоровых доноров, p_2 – у больных туберкулезом легких до лечения, *n* – количество обследованных.

Экспериментальные и клинические исследования

Общее же количество лейкоцитов и содержание моноцитов у больных ТЛ варьировали в пределах нормы (см. табл. 1).

При цитохимическом изучении нейтрофилов и моноцитов периферической крови при ТЛ у первичных больных выявлялось повышение активности миелопероксидазы и неспецифической эстеразы в моноцитах, кислой фосфатазы – в моноцитах и нейтрофилах. Данные изменения фиксировались и после 2 мес лечения (табл. 2).

Вместе с этим показатели фагоцитарной активности моноцитов у больных ТЛ в разгар заболевания и после курса интенсивной противотуберкулезной терапии оказались ниже контрольного уровня, что проявлялось уменьшением количества Fcγ- и C3b-несущих клеток (табл. 3). Отмечалось также явное угнетение микрофагального иммунитета. При этом процент активных нейтрофилов и показатель завершенности фагоцитоза снижались у больных ТЛ практически в 2,3 и

1,4 раза соответственно без заметных изменений после 2 мес лечения (табл. 3). Однако поглотительная способность моноцитарных клеток и нейтрофилов при ТЛ оставалась нормальной (табл. 3).

Указанные нарушения метаболического и функционального статуса фагоцитарных клеток крови, по всей видимости, могут определяться поступлением в кровотоки функционально незрелых моноцитов с высокой метаболической активностью и угнетением переваривающей способности нейтрофилов. Последнее, вероятно, компенсируется стимуляцией ферментативной активности клеток, поскольку известно, что кислая фосфатаза (маркерный фермент лизосом) играет ключевую роль в процессах фагоцитоза и внутриклеточного расщепления чужеродных объектов [7].

Таблица 2

Ферментативная активность (СЦК) в лейкоцитах периферической крови у больных туберкулезом легких, $\bar{X} \pm m$

Показатель		Контрольная группа (n = 25)	Больные ТЛ	
			До лечения (n = 8)	Через 2 мес лечения (n = 8)
Моноциты	Миелопероксидаза	0,07 ± 0,01	2,65 ± 0,08 $p_1 < 0,001$	2,51 ± 0,05 $p_1 < 0,01$
	Кислая фосфатаза	0,73 ± 0,05	2,75 ± 0,07 $p_1 < 0,001$	3,24 ± 0,18 $p_1 < 0,01$
	Неспецифическая эстераза	0,95 ± 0,03	3,55 ± 0,09 $p_1 < 0,001$	3,70 ± 0,10 $p_1 < 0,001$
Нейтрофилы	Миелопероксидаза	1,91 ± 0,07	1,77 ± 0,10	2,01 ± 0,03
	Кислая фосфатаза	0,94 ± 0,02	1,39 ± 0,07 $p_1 < 0,001$	1,44 ± 0,16 $p_1 < 0,01$

Таблица 3

Фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов периферической крови у больных туберкулезом легких, $\bar{X} \pm m$

Показатель		Контрольная группа (n = 10)	Больные ТЛ	
			До лечения (n = 8)	Через 2 мес лечения (n = 8)
Моноциты	Fcγ-клетки, %	26,00 ± 1,12	10,80 ± 4,11 $p_1 < 0,01$	4,63 ± 1,22 $p_1 < 0,001$
	C3b-клетки, %	28,80 ± 0,94	5,20 ± 2,35 $p_1 < 0,001$	5,88 ± 1,62 $p_1 < 0,001$
	Поглотительная способность, ед. опт. пл.	119,30 ± 3,34	193,80 ± 37,40	197,88 ± 54,67
Нейтрофилы	Активные клетки, %	65,20 ± 1,29	28,60 ± 2,98 $p_1 < 0,001$	33,00 ± 4,23 $p_1 < 0,001$
	Поглотительная способность, ед. опт. пл.	6,53 ± 0,09	6,80 ± 0,65	5,75 ± 0,59
	Показатель завершенности фагоцитоза, %	61,70 ± 2,15	45,10 ± 3,48 $p_1 < 0,001$	40,00 ± 3,48 $p_1 < 0,001$

Отсутствие положительной динамики показателей после проводимой терапии могло обуславливаться способностью микобактерий туберкулеза к длительной внутриклеточной персистенции и истощением защитных механизмов в процессе воспалительной реакции, а также (что не исключено) иммунотоксическим действием применяемых в лечении химиопрепаратов.

Таким образом, туберкулез легких, в течении которого доминируют инфильтративные и диссеминированные процессы, характеризуется угнетением микро- и макрофагального звеньев неспецифической резистентности организма и отсутствием ее стимуляции после интенсивного курса противотуберкулезной терапии. В свою очередь, низкая антибактериальная защита организма может обуславливать недостаточную активацию каскадных реакций, обеспечивающих воспаление, нарушение общего ответа организма на инфекцию и возможность хронизации туберкулезного процесса в легких.

Литература

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры тканей в гематологии. Томск, 1992. 272 с.
- 2.

3. Земсков В.М., Родионов С.В., Пантин В.М. и др. Усовершенствованный метод выделения моноцитов крови // Клинич. лаборат. диагностика. 1985. № 3. С. 24–28.
4. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 365 с.
5. Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Коньшклина Т.М. Неоднородность нейтрофилов человека в реакциях специфической адгезии // Иммунология. 1989. № 3. С. 55–58.
6. Саин Д.О., Цымбаларь Г.Л. Современная характеристика распространенных и остро прогрессирующих форм туберкулеза легких // Проблемы туберкулеза. 1999. № 1. С. 27–30.
7. Стрелис А.К., Янова Г.В., Петрова Л.Е. Остро прогрессирующий туберкулез – новая категория больных в практике современной фтизиатрии // Проблемы туберкулеза. 1999. № 2. С. 4–5.
8. Хейхоу Ф.Г., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. М.: Медицина, 1983. 319 с.
9. Хоменко А.Г. Туберкулез вчера, сегодня, завтра // Проблемы туберкулеза. 1997. № 6. С. 9–11.
10. Фрейдлин И.С. Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети // Иммунология. 1995. № 3. С. 17–23.
11. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. М.: Медицина, 1984. 300 с.

Поступила в редакцию 24.02.2004 г.