

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ БРОНХОЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Ляпина С.А.¹, Федотова Г.Г.²

¹ФГБОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: dep-mail@adm.mrsu.ru;

²ФГБОУ ВО «Мордовский государственный педагогический институт им. М.Е. Евсевьева», Саранск, e-mail: mgpi@moris.ru

Изучение роли клеток-фагоцитов нейтрофилов в развитии патологии дыхательной системы имеет большое практическое значение. В настоящем сообщении приводятся результаты изучения реактивности нейтрофилов при бронхолегочных заболеваниях, которые характеризуются многообразием клинико-морфологических проявлений. При переходе острых явлений заболевания легких в хронические защитную роль выполняют иммунные комплексы, образование которых представляет собой естественную часть иммунного ответа. Реактивность нейтрофилов обусловлена процессом дегрануляции. Специфические гранулы, содержащие щелочную фосфатазу, принимают участие в хемотаксисе. Они первыми вступают в процесс фагоцитоза. Азурофильные гранулы, содержащие кислую фосфатазу, включаются в стадию адгезии, для которой характерно опсонирование и экзоцитоз бактериальных компонентов. В связи с этим сенсбилизируется большое количество кислой фосфатазы. При этом активность фагоцитоза снижается. Адгезия подавляет хемотаксис. Миелопероксидаза снижает жизнедеятельность микроба и способствует его уничтожению. Показано, что реактивные процессы в нейтрофилах связаны с локализацией транспортных ферментов – Na-K- и Ca-АТФ-аз, отражающих морфофункциональное состояние нейтрофилов. Клетки-фагоциты нейтрофилов отличаются характерной структурой и сложным внутриклеточным метаболизмом. В механизме развития бронхолегочной патологии значение имеет степень изменения процесса фагоцитоза.

Ключевые слова: нейтрофилы, фагоцитоз, бронхолегочные заболевания, щелочная фосфатаза, кислая фосфатаза, миелопероксидаза, Na-K-АТФ-аза, Ca-АТФ-аза.

REACTIVE CHANGES OF NEUTROPHILES IN BRONCHOPULMONARY DISEASES

Lyapina S.A.¹, Fedotova G.G.²

¹Mordovian State University named after N.P.Ogarev, Saransk, e-mail: dep-mail@adm.mrsu.ru;

²Mordovian State Pedagogical Institute named after M.E. Evseyjev, Saransk, e-mail: mgpi@moris.ru

Studying the role of neutrophil phagocytic cells in the development of the pathology of the respiratory system is of great practical importance. This report presents the results of a study of neutrophil reactivity in bronchopulmonary diseases, which are characterized by a variety of clinical and morphological manifestations. When acute lung disease progresses to a chronic protective role, immune complexes play, the formation of which is a natural part of the immune response. The reactivity of neutrophils is due to the process of degranulation. Specific granules containing alkaline phosphatase are involved in chemotaxis. They are the first to enter the process of phagocytosis. Azurophilic granules containing acid phosphatase are included in the adhesion stage, which is characterized by opsonization and exocytosis of bacterial components. In this regard, a large amount of acid phosphatase is sensitized. At the same time, the activity of phagocytosis is reduced. Adhesion suppresses chemotaxis. Myeloperoxidase reduces the vital activity of the microbe and contributes to its destruction. It was shown that reactive processes in neutrophils are associated with the localization of transport enzymes, Na-K- and Ca-ATP-az, reflecting the morphofunctional state of neutrophils. Phagocytic neutrophil cells differ in their characteristic structure and complex intracellular metabolism. In the mechanism of development of bronchopulmonary pathology, the degree of change in the process of phagocytosis is important.

Keywords: neutrophils, phagocytosis, bronchopulmonary diseases, alkaline phosphatase, acid phosphatase, myeloperoxidase, Na-K-ATP-aza, Ca-ATP-aza.

Общепризнанно, что нейтрофил как полноценная функциональная единица принадлежит к наиболее реактивным клеткам. В этом смысле реактивность нейтрофила отражает многообразие функциональных контактов этих клеток с медиаторными системами

плазмы и другими клеточными элементами крови и соединительной ткани. Рассматривая нейтрофил как клетку, участвующую в регуляции гомеостаза, внимание обращено на важнейшие проявления реактивности этих клеток: мобилизационные и эффекторные реакции. Роль нейтрофилов традиционно рассматривается главным образом в связи с их участием в противоинфекционном иммунитете. Характерными признаками реактивности активированных нейтрофилов считаются: перестройка процессов метаболизма, миграция, адгезия, «кислородный взрыв», поглощение объекта фагоцитоза, образование пищеварительной вакуоли и регуляторная (секреторная) функция нейтрофилов [1].

Клетки-фагоциты нейтрофилы отличаются характерной структурой и сложным внутриклеточным метаболизмом. Клеточный метаболизм чрезвычайно чувствителен к изменению содержания Na-K и Ca-АТФ-азы в цитозоле клетки. Эти же ионы определяют электрическую активность возбудимых клеток и необходимы для инициации фагоцитоза [2].

В механизме развития бронхолегочной патологии значение имеет степень изменения процесса фагоцитоза [3; 4].

Свои главные эффекторные функции нейтрофилы реализуют через воспалительный процесс: а именно, разрушают и удаляют вызвавшие воспаление агенты и регулируют поведение клеток, участвующих в воспалении [5; 6].

Целью исследования явилось изучение реактивности нейтрофилов при бронхолегочных заболеваниях.

Материалы и методы исследования

Принцип оценки фагоцитарной активности основан на определении поглотительной и переваривающей способности клеток. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов осуществляли в иммерсионной системе под микроскопом специальным методом, основанным на определении резервных возможностей нейтрофилов к выполнению их основной функции – поглощению и переработке чужеродных агентов. Определяли показатели фагоцитоза: фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ), индекс бактерицидности нейтрофилов (ИБН).

Кислородзависимые механизмы бактерицидности оценивали по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) – образование в цитоплазме клеток крови гранул формазана.

Цитохимическими методами исследовали активности следующих ферментов: щелочной фосфатазы (ЩФ), кислой фосфатазы (КФ), миелопероксидазы (МПО), Na-K-АТФ-азы, Ca-АТФ-азы. Количественный анализ ферментативной активности проводили на микрофотометре. Показатели выражены в относительных единицах плотности.

Электронно-микроскопическое исследование нейтрофилов и процесс фагоцитоза осуществляли в лаборатории электронной микроскопии Медицинского института МГУ имени Н.П. Огарева (Саранск). Подготовка электронограмм проводилась по традиционной методике.

Пациенты с бронхолегочными заболеваниями были представлены тремя группами по 10 человек в каждой:

- I группа – пациенты с бронхитом (острая форма);
- II группа – пациенты с пневмонией (период обострения);
- III группа – пациенты с бронхиальной астмой (хроническая форма).

Результаты исследования и их обсуждение

В развитии легочного воспаления в зависимости от фазы заболевания (обострение или ремиссия) особая роль принадлежит системе фагоцитирующих клеток. При обследовании пациентов с бронхолегочными заболеваниями различного происхождения, показатели фагоцитарной реакции отражают изменения реактивности организма, которая зависит от степени тяжести заболевания.

Нами показано, что в стадии обострения заболевания поглотительная и внутриклеточная переваривающая способность нейтрофилов по показателям ФИ и ФЧ снижена по сравнению с нормой.

Показатели фагоцитоза (ФИ, ФЧ, ИБН), активность внутриклеточно расположенных ферментов (МПО, ЩФ, КФ, Na-K-АТФ-аза, Са-АТФ-аза), кислородзависимые механизмы бактерицидности (НСТ-тест) изучали в зависимости от фазы заболевания (обострение или ремиссия), в результате чего нами были выявлены некоторые особенности.

У пациентов I группы в фазу обострения заметно снижение показателей фагоцитоза по сравнению с группой здоровых доноров: ФИ – на 18,5% и ФЧ – на 42,0%. По нашему мнению, это связано с угнетением поглотительной активности нейтрофилов. Подавление фагоцитарной активности нейтрофилов мы рассматриваем как следствие подавляющего (супрессивного) действия вирусов на фагоцитирующие клетки. В фазе обострения воспалительного процесса происходит увеличение НСТ-позитивных нейтрофилов на 92,7%. ИБН повышается в 2,0 раза.

В крови пациентов II группы наблюдается снижение ФИ и ФЧ на 15,1% и 36,5% соответственно. В фазе обострения отмечается повышение НСТ-теста в 2,5 раза. ИБН увеличивается в 2,3 раза.

В крови пациентов III группы отмечается снижение ФИ на 16,2%, ФЧ – на 40,2%. НСТ-тест увеличивается на 99,3%, ИБН – в 2,2 раза. При бронхиальной астме больного нейтрофилы могут контактировать с комплексом аллерген-антитело путем поглощения и

переваривания. При этом функциональная активность нейтрофилов выражена сильнее, чем аллергический процесс. В фазу ремиссии показатели ФИ и ФЧ у пациентов I, II, III группы увеличиваются.

Показатели НСТ-теста и ИБН снижаются у пациентов всех трех групп по сравнению с фазой обострения, что, по всей видимости, связано с процессами перенапряжения функциональной деятельности нейтрофилов и может расцениваться как недостаточность кислородзависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов.

Течение бронхолегочных заболеваний сопровождается развитием синдрома эндогенной интоксикации, степень выраженности которой пропорциональна тяжести клинического течения болезни.

Заслуживает особого внимания тот факт, что нейтрофилы являются мощным эффектором и начинающимся механизмом реакций, обеспечивающих развитие воспаления. Реактивность нейтрофила обеспечивается обособленными механизмами, проявляющимися независимо друг от друга.

Полученные в модельных исследованиях результаты определенно указывают на динамику ферментативной активности и фагоцитарной способности нейтрофилов у больных бронхолегочными заболеваниями, при обострении которых содержание ЩФ в клетках-фагоцитах повышалось. Уровень ЩФ нейтрофилов в фазу ремиссии не изменялся. Мы обратили внимание, что наблюдается прямая связь между тяжестью воспалительного процесса и активностью щелочной фосфатазы. В период обострения активность КФ в крови пациентов I группы увеличивалась на 30,0%, II группы – на 38,1% и III группы – на 33,5%.

Нейтрофилы секретируют низкомолекулярные продукты, обладающие супрессорным действием на фоне альтерирующих факторов. После стимуляции нейтрофилов в течение первых нескольких секунд происходит респираторный взрыв, связанный с активностью МПО. Респираторный взрыв, вызванный накоплением в нейтрофилах МПО, составляет у пациентов I группы – 17,0%, II группы – 29,0%, III группы – 24,7%. В фазе обострения активность МПО в нейтрофилах достоверно снижалась по сравнению с фазой ремиссии, что может свидетельствовать о нарушении образования активных кислородных метаболитов.

Общебиологические свойства ионтранспортирующих систем, связанных с функционированием мембранного аппарата клеток, отражают степень активности АТФ-аз, которая выявляется в виде черных цитоплазматических отложений. Нами показано, что при действии повреждающего агента активность Na-K-АТФ-азы и Ca-АТФ-азы изменяется. В стадии хемотаксиса и адгезии, когда нейтрофилы движутся в поврежденную ткань и прилипают к поверхности, их активность возрастает; в стадии киллинга и деградации

микроорганизмов (кислородзависимый респираторный взрыв) – снижается, наблюдается снижение количества жизнеспособных клеток в конце фагоцитоза.

Противомикробной резистентности, эффекторами которой являются нейтрофилы, как и естественные киллеры и неспецифические гуморальные факторы, отводится существенная роль в защите организма.

Нейтрофилы содержат в своих гранулах и синтезируют в процессе активации высокотоксичные продукты, повреждающие клетки. Это свойство во многом определяет их участие в антимикробной защите, остром бронхолегочном воспалении.

Морфологическая ультраструктура нейтрофилов при бронхолегочной патологии имеет свои особенности. Высвобождение преформированных биологически активных веществ составляет важный этап реализации эффекторного потенциала нейтрофила.

Заключение

Изложенный материал указывает на многогранность реактивных свойств нейтрофилов. Нами выбраны наиболее убедительные и информативные факторы, которые изучались нами в течение долгих лет на большом клиническом материале, с позиции воспалительного процесса. Методы изучения реактивности нейтрофилов, в частности их секреторной функции, позволяющие оценивать биологическую активность продуктов, выделяемых этими клетками в процессе активации, могут быть использованы для тестирования их дефектов у больных. Клиническое и экспериментальное использование таких методов может дать дополнительную информацию не только для диагностики иммунодефицитных состояний и прогноза течения патологических процессов, но и для понимания роли нейтрофилов в регуляции различных звеньев гомеостаза.

Снижение фагоцитарной активности нейтрофилов по показателям ФИ и ФЧ в фазу обострения при всех формах бронхолегочных заболеваний следует рассматривать как следствие супрессорного воздействия бактерий на фагоцитирующие клетки. Уровень щелочной и кислой фосфатаз в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов периферической крови служит показателем, характеризующим защитную функцию этих клеток, и является морфологическим тестом сенсibilизации организма.

Нейтрофил включается в сложную систему регуляции процессов метаболизма и различных функций организма. Можно полагать об изменении в кислородзависимых механизмах бактерицидности нейтрофилов.

Максимальные показатели НСТ-теста и ИБН в стадии обострения заболевания отражают завершенность фагоцитоза. В фазу ремиссии показатели НСТ-теста и ИБН снижаются. НСТ-тест является признанным показателем бактерицидной функции фагоцитов, и его логично рассматривать как функциональный критерий готовности нейтрофилов к

завершенному фагоцитозу. Данное обстоятельство, по всей видимости, является важным фактором усиления фагоцитарной функции нейтрофилов.

Возникновение, период разгара и период завершения болезни зависят от реактивности организма, которая, в свою очередь, определяется функциональным состоянием иммунной системы. В общебиологическом отношении активность изучаемых показателей при последовательности реакций патологического процесса указывает на повышение реактивности нейтрофилов, что рассматривается как проявление защитной и приспособительной реакции от нарушения нормального течения жизненных процессов – способа сохранения организма.

Список литературы

1. Ляпина С.А., Федотова Г.Г. Структурно-функциональная организация мембран нейтрофилов при бронхолегочных заболеваниях и коррекция их антиоксидантными препаратами // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27199> (дата обращения: 20.10.2018).
2. Ляпина С.А. Активность Na-K и Ca-АТФ-аз нейтрофильных гранулоцитов крови при воздействии *in vitro* низкоинтенсивным гелий-неоновым лазером. автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 1998. 21 с.
3. Негруца К.В. Нарушение функций нейтрофилов как один из механизмов формирования воспаления у больных бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких и внебольничной пневмонией. автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2017. 21 с.
4. Jenne C.N., Wong C.H., Zemp F.J., McDonald B., Rahman M.M., Forsyth P.A., McFadden G., Kubes P. Neutrophils recruited to sites of infection protect from virus challenge by releasing neutrophil extracellular traps. *Cell host microbe*. 2013. vol. 13. no. 2. P. 169-180.
5. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Невважай Т.А., Полутова Н.В., Бизенкова М.Н. Морфофункциональные и метаболические особенности гранулоцитов периферической крови // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 4-2. С. 285-289.
6. Галкин А.А., Демидова В.С. Центральная роль нейтрофилов в патогенезе синдрома острого повреждения легких (острый респираторный дистресс-синдром) // Успехи современной биологии. 2014. Том 134. № 4. С.377-394.