

*О. М. Грובה, Т. Н. Копьева, И. И. Дыханов, Л. М. Гудовский,
М. А. Русаков*

НЕЙТРОФИЛЫ ОЧАГА ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ЛЕГКИХ: ДВИГАТЕЛЬНАЯ, ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ И УРОВЕНЬ ОБМЕНА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Лаборатория общей патологической анатомии НИИ морфологии человека АМН РФ, Москва

NEUTROPHILS FROM CHRONIC INFLAMMATORY ZONE: LOCOMOTORY, PHAGOCYTIC
ACTIVITY AND THE LEVEL OF OXYDATIVE ANZYMES EXCHANGE.

O. M. Grobova, T. N. Kopyeva, I. I. Dykhanov, L. M. Gudovsky, M. A. Rusakov

Summary

Locomotory, phagocytic activity and the level of key oxydative enzymes functioning were studied in neutrophils, obtained from broncho-alveolar fluid (BAF) of 21 patient with chronic bronchitis and 24 — with bronchiectasis. In these two diseases the common features for BAF neutrophils were: a) decrease of LDH activity on the peak of exacerbation; b) lack of dynamics in locomotory and phagocytic activity parameters as well as of G-6-PDH exchange level in spite of inflammatory process growing activity. An increase of SDH and NADPDH activity in BAF neutrophils was marked at the peak level of chronic bronchitis exacerbation. At the same time no increase in their activity was found in bronchiectasis group.

Резюме

У 21 больного хроническим бронхитом и 24 больных бронхоэктатической болезнью проводили комплексное изучение двигательной, поглотительной активности, а также уровня функционирования ключевых окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов бронхоальвеолярных смывов (БАС). Для двух заболеваний общими признаками нейтрофилов БАС были: а) снижение активности ЛДГ на высоте обострения; б) отсутствие динамики показателей двигательной и поглотительной активности, а также уровня обмена Г-6-ФДГ по мере усиления степени активности воспаления. В нейтрофилах БАС при хроническом бронхите отмечали усиление активности СДГ и НАДФДГ на высоте обострения, в то время как при бронхоэктатической болезни динамика активности этих ферментов отсутствовала.

Функциональному потенциалу нейтрофилов очага хронического воспаления, которые наряду с альвеолярными макрофагами являются основными компонентами воспалительных и иммунных реакций в легких, посвящен ряд исследований. Сообщается об ослаблении направленной миграции, о снижении фагоцитарной активности нейтрофилов мокроты и бронхоальвеолярных смывов (БАС) при хроническом бронхите (ХБ) и бронхоэктатической болезни (БЭБ) [2, 10, 14]. Ранее нами было показано отсутствие увеличения количества нейтрофилов БАС, положительных в НСТ-тесте, высокие показатели остаточной активности миелопероксидазы и щелочной фосфатазы в них при БЭБ [5, 7].

Целью настоящего исследования было комплексное изучение двигательной, поглотительной и метаболической активности нейтрофилов БАС у больных ХБ и БЭБ.

Изучали БАС, полученные от 21 больного ХБ и 24 больных БЭБ, которые проходили лечение в НИИ морфологии МЗ СССР и ВНИЦ АМН СССР. Клиническая и лабораторная характеристика материала опубликована нами ранее [3, 7]. Жидкость БАС из пораженных сегментов легких получали в ходе санирующей и диагностической бронхоскопии по разработанному нами способу [7]. После подсчета цитоза пробирочным методом в камере Горяева и определения жизнеспособности клеток (в 0,1 % р-ре трипанового синего и эозина) готовили мазки, которые окрашивали по Романовскому—Гимзе. На 500 клетках мазка определяли соотношение различных клеточных элементов в процентах (цитограмма). Учитывая данные цитограммы и цитоза в 1 мл БАС, рассчитывали абсолютное содержание различных клеточных элементов в 1 мл БАС [13]. В соот-

Показатели функциональной активности нейтрофилов БАС больных с заболеваниями легких

Параметры	Хронический бронхит. Степень активности		Бронхоэктатическая болезнь Степень активности		Острая пневмония (Копьева Т. Н. с соавт., 1991). Фаза разгара	p					
	минималь- ная	высокая	минималь- ная	высокая		1—2	3—4	1—3	2—4	2—5	4—5
Номер группы	1	2	3	4	5	1—2	3—4	1—3	2—4	2—5	4—5
Количество наблюдений	12	9	10	14	9						
Количество нейтрофилов относительное, %	10,5±1,31	85,93±1,58	12,52±1,21	82,59±3,45	45,83±11,90	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
абсолютное, ·10 ⁶ /мл	0,11±0,01	2,84±0,59	0,05±0,02	0,92±0,30	6,43±2,96	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
Хемотаксис показатель фронта дви- жения, мм	0,018±0,068	0,064±0,060	0,064±0,040	0,048±0,019	0,033±0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Фагоцитоз фагоцитарное число, %	10,31±2,63	18,30±0,80	17,30±0,79	20,00±2,07	21,33±5,69	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
фагоцитарный индекс, абс. число	2,80±0,30	3,40±0,61	3,60±0,59	3,94±1,16	2,26±0,33	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Активность окислительно-вос- становительных ферментов, усл. ед.											
СДГ	0,08±0,06	0,52±0,02	0,00±16,66	0,00±12,84	—	<0,05	>0,05	>0,05	<0,01	—	—
ЛДГ	0,69±0,14	0,27±0,16	0,43±0,06	0,18±0,08	—	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	—	—
Г-6-ФДГ	0,38±0,15	0,33±0,14	0,45±0,20	0,51±0,12	—	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	—	—
НАДФДГ	0,53±0,27	1,15±0,01	0,80±0,01	0,45±0,08	—	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	—	—

ветствии с разработанными нами критериями местной цитологической активности наблюдения БАС были разделены на группы минимальной (с долей нейтрофилов БАС от 4 % до 19 %) и высокой (с относительным числом нейтрофилов от 60 % до 99,9 %) активности [3]. Исследовали только наблюдения с высокой жизнеспособностью клеточной суспензии (выше 80 %). В качестве группы сравнения использовали функциональные показатели нейтрофилов БАС при острой пневмонии (ОП) [8]. Контрольные наблюдения (8 БАС, взятых у лиц без легочной патологии) не изучали, поскольку были обнаружены низкие показатели жизнеспособности клеточных взвесей.

Направленную миграцию нейтрофилов исследовали с помощью микрофилтрационного метода по отношению к бактериальному фактору *E. coli* по показателю «фронта движения» (в мкм). Поглотительную активность изучали при помощи реакции фагоцитоза суточной культуры *E. coli* 065 в микрочашках Петри [11]. Подсчитывали процент клеток, содержащих микроорганизмы (фагоцитарное число), и среднее количество микроорганизмов, поглощенных одним фагоцитом (фагоцитарный индекс). Подсчитывали процент клеток, дающих положительную реакцию в НСТ-тесте [1]. Определяли активность окислительно-восстановительных ферментов: сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), НАДФ-дегидрогеназы (НАДФДГ) [9]. Активность реакции оценивали полуколичественно в баллах (от 0 до 3) в 100 клетках мазка. Субпороговую реакцию расценивали как 0 баллов; минимальную реакцию (единичные бледные гранулы или

слабое диффузное окрашивание цитоплазмы) — как 0,5 балла; умеренную реакцию (половина или вся цитоплазма заполнена бледно-окрашенными гранулами) — как 1—1,5 балла; высокую реакцию (более 1/3 цитоплазмы заполнено яркоокрашенными гранулами) — как 2—3 балла. Для каждого наблюдения определяли значение среднего цитохимического коэффициента. Затем подсчитывали средний цитохимический коэффициент для группы наблюдений в целом.

Результаты цитологического и функционального исследования нейтрофилов БАС представлены в таблице.

Показатели «фронта движения» нейтрофилов из очага хронического воспаления существенно не отличались при различных степенях цитологической активности как при ХБ, так и при БЭБ ($p > 0,05$). Не обнаружено также различий с



Рис. 1. Хемотаксическая активность нейтрофилов БАС при различной степени активности воспалительного процесса в легких.

двигательной активностью нейтрофилов БАС больных ОП ($p > 0,05$) — рис. 1.

Фагоцитарные потенции нейтрофилов БАС при обоих заболеваниях не изменялись. Как при минимальной, так и при высокой степени активности воспаления относительное число активно-фагоцитирующих клеток было одинаковым ($p > 0,05$). Не обнаружено также достоверных различий с показателями поглотительной активности нейтрофилов БАС от больных ОП. Достоверно не изменялся и показатель фагоцитарного индекса. Нейтрофилы очагов как острого, так и хронического воспаления содержали одинаковое среднее количество поглощенных одним фагоцитом микроорганизмов.

При обострении воспаления в нейтрофилах БАС отмечалось достоверное снижение активности гликолитического фермента ЛДГ ($p < 0,05$). Усиление активности воспаления при ХБ сопровождалось повышением активности СДГ и НАДФДГ ($p < 0,05$), в то время как при БЭБ динамика цитохимических показателей активности этих ферментов отсутствовала. Уровень обмена Г-6-ФДГ при обоих заболеваниях достоверно не менялся (рис. 2).

Представленные данные свидетельствуют о том, что в очаге хронического воспаления сохраняются двигательная и поглотительная активность нейтрофилов. Нельзя согласиться с заключениями Е. Ф. Чернушенко с соавт. [10] и Т. А. Канашковой с соавт. [6] о снижении двигательной и фагоцитарной активности нейтрофилов БАС при ХБ, так как авторы сравнивали их функциональную активность с нейтрофилами периферической крови. Ранее нами было показано, что нейтрофилы бронхоальвеолярного пространства обладают рядом особенностей цитохимических показателей по сравнению с клетками периферической крови, и использование последних в качестве контроля неправомерно [7].

Важной особенностью нейтрофилов очага хронического воспаления является отсутствие динамики их двигательной и поглотительной активности в зависимости от степени активности воспаления.

Впервые проведенное нами исследование активности окислительно-восстановительных ферментов в нейтрофилах БАС позволило дать как общую характеристику метаболической активности клеток в очаге хронического воспаления, так и выявить особенности обмена их при ХБ и БЭБ. При обоих заболеваниях нейтрофилы БАС характеризовались снижением активности ЛДГ на высоте обострения воспаления, что отражает понижение активности анаэробного пути окисления глюкозы в клетках. Следует отметить высокие показатели активности ферментов пентозного шунта Г-6-ФДГ в нейтрофилах БАС, которые сохранялись при всех степенях активности воспаления. Вместе с тем снижение глико-

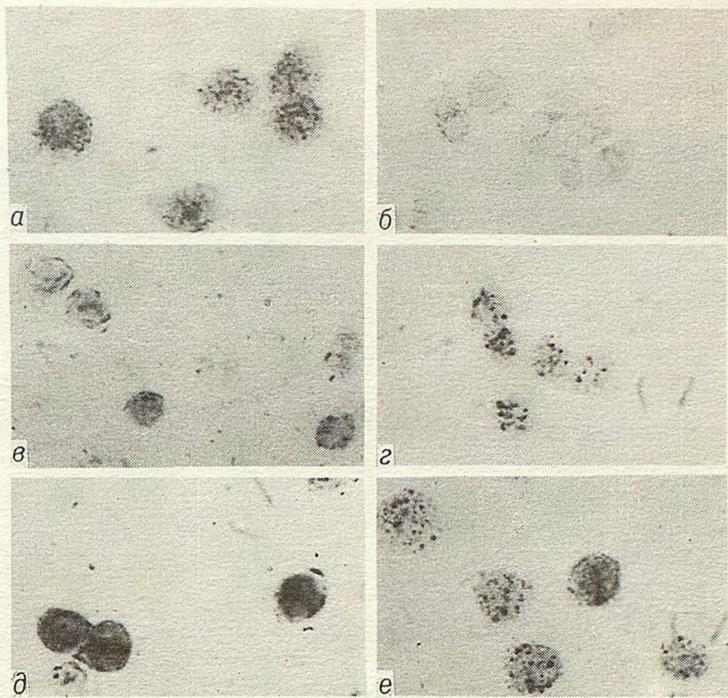


Рис. 2. Цитохимические реакции нейтрофилов из очага хронического воспаления. $\times 900$. Масляная иммерсия.

a — высокая активность СДГ при ХБ высокой степени активности, *б* — низкая активность СДГ при БЭБ высокой степени активности, *в* — умеренная активность Г-6-ФДГ при ХБ минимальной степени активности, *г* — умеренная активность Г-6-ФДГ при БЭБ высокой степени активности, *д* — высокая активность НАДФДГ при ХБ высокой степени активности; *е* — умеренная активность НАДФДГ при БЭБ высокой степени активности воспаления.

литической активности по мере усиления степени активности воспаления при ХБ сопровождается сопряженным повышением уровня обмена фермента цикла Кребса (СДГ), в то время как при БЭБ динамика ферментативной активности отсутствует. Кроме того, активность НАДФДГ в нейтрофилах БАС при БЭБ оказалась достоверно ниже, чем при ХБ. Это указывает на более низкий уровень внутриклеточного окисления, необходимого для регенерации коферментов [9]. Учитывая, что процесс регенерации коферментов в нейтрофилах тесно связан с бактерицидными эффектами, становится понятным обнаруженный при БЭБ факт более низкой, чем при ХБ, активности нейтрофилов БАС в НСТ-тесте [7]. Следовательно, при БЭБ в нейтрофилах БАС имеются признаки разобщения процессов аэробного и анаэробного окисления глюкозы и снижение процессов регенерации коферментов, что, возможно, приводит к неполноценности бактерицидных систем. Положительный метаболизм нейтрофилов при ХБ обеспечивает более полноценное функционирование бактерицидных механизмов.

Нами не выявлено взаимообусловленности уровня поглотительного потенциала и процесса неферментного окисления в НСТ-тесте, которые Е. Ф. Чернушенко с соавт. [10] рассматривают в качестве особенностей хронического воспаления. Одинаковые показатели фагоцитарной

активности как при ХБ, так и при БЭБ сопровождались различной активностью нейтрофилов БАС в НСТ-тесте [7]. Это, видимо, связано с тем, что при БЭБ в нейтрофилах БАС угнетены основные метаболические процессы (цикл Кребса и гликолиз), в ходе которых вырабатывается АТФ, являющийся, согласно современным представлениям, важнейшим кофактором «респираторного взрыва» [12].

Выводы

1. Нейтрофилы БАС при ХБ и БЭБ характеризуются снижением активности ЛДГ на высоте обострения воспаления. Динамика показателей двигательной и поглотительной активности, а также уровня обмена Г-6-ФДГ в этих клетках при различной степени активности воспаления отсутствует.

2. Нейтрофилы БАС обладают функциональными особенностями при различных воспалительных заболеваниях. При ХБ обострение воспаления сопровождается достоверным увеличением активности СДГ и НАДФДГ нейтрофилов БАС, при БЭБ динамика активности этих ферментов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бажора Ю. И., Тимошенко В. Н., Протченко П. З., Головаченко А. Н. // Лаб. дело.— 1984.— № 4.— С. 198—200.
2. Булычев А. Г., Журавлев А. Г., Ивчик Г. В. // Пробл. туб.— 1984.— № 8.— С. 62—65.
3. Грובה О. М., Копьева Т. Н., Макарова О. В. и др. // Там же.— 1989.— № 12.— С. 7—11.
4. Грובה О. М., Копьева Т. Н., Дыханов И. И., Русаков М. А. // Лаб. дело.— 1991.— № 4.— С. 31—35.
5. Грובה О. М., Копьева Т. Н., Воронина М. М. и др. // Всесоюзный съезд патологоанатомов, 7-й: Материалы.— Тбилиси, 1989.— С. 38—40.
6. Канашикова Т. А., Шепелевич А. А., Кленицкая Т. В., Аршавская Е. В. // Всесоюзный съезд иммунологов, 1-й: Тезисы докладов.— Владивосток, 1989.— Т. 1.— С. 59.
7. Копьева Т. Н., Грובה О. М., Воронина Л. М. и др. // Клини. мед.— 1991.— № 5.— С. 21—23.
8. Копьева Т. Н., Шашев Н. С., Грובה О. М. и др. // Арх. пат.— 1991.— № 7.— С. 83—88.
9. Лойд З., Гассау Р., Шиблер Г. Гистохимия ферментов (лабораторные методы).— М.: Мир, 1982.
10. Чернушенко Е. Ф., Белянская Т. И., Кузнецова А. В. // Лаб. дело.— 1986.— № 7.— С. 433—435.
11. Хилько В. А., Усанов Е. И., Хлуновский А. И. // Там же.— 1985.— № 3.— С. 143—145.
12. Clark R. A. // J. Clin. Invest.— 1990.— Vol. 85, N 3.— P. 701—721.
13. Gonzales M. C., Diaz P., Galleguilles F. R. // Am. Rev. Respir. Dis.— 1987.— Vol. 136, N 3.— P. 600—605.
14. Stockley R. A., Shaw J., Hill S. L., Burnett D. // Clin. Sci.— 1988.— Vol. 74, N 6.— P. 645—650.

Поступила 12.10.92

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.24-07:616.233-008.8-074+616.5-004.1-031.81-06

Г. А. Дюбанова, Л. Д. Сидорова, Е. А. Мовчан, М. Ф. Валентик,
М. В. Кудрявцева

БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНЫЙ ЛАВАЖ В ДИАГНОСТИКЕ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

Кафедра внутренних болезней для субординаторов Новосибирского медицинского института

BRONCHO-ALVEOLAR LAVAGE IN DIAGNOSTICS OF LUNG INJURIES DURING SYSTEMIC SCLERODERMA.

G. A. Dubanova, L. D. Sidorova, E. A. Movchan, M. F. Valentik, M. V. Kudryavtzeva.

Summary

In two groups of patients suffering from systemic scleroderma: 1st group (11 patients) without and 2nd group (7 patients) with the signs of lung damage, diagnostic broncho-alveolar lavage (BAL) was performed. Cell content and functional activity of alveolar macrophages (AM) from the BAL fluid were studied by means of spontaneous and induced NBT-test. According to cytogram data, 54,5 % of patients from the 1st group were suffering from «latent» alveolitis of neutrophil type. Spontaneous NBT-test parameters witnessed for the activated condition of AM with no significant difference in this parameter between patients with diagnosed alveolitis and those, having normal cytogram. Higher levels of cytolysis and neutrophilia of BAL fluid from patients of the 2nd group corresponded to more severe cases of fibrosing alveolitis (FA) accompanied by X-ray changes and decrease in pulmonary function parameters. There was no difference in common tendencies of NBT-test parameters between the two groups. More severe and generalized damage of skin was marked in all patients with high activity of FA.