



УДК: 616.233-002-036.11: 616.155.348

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ БРОНХИТЕ

**Н.А. КЛИМЕНКО<sup>1</sup>**  
**М.А. ШЕЛЕСТ<sup>2</sup>**

<sup>1)</sup>Харьковская медицинская академия  
последипломного образования,

<sup>2)</sup>Харьковский национальный  
медицинский университет

e-mail: kafedra\_ag@mail.ru

Изучена фагоцитарная и бактерицидная активность нейтрофилов периферической крови у больных хроническим бронхитом в стадии обострения. Установлено снижение поглотительной способности нейтрофилов одновременно активацией их кислород-зависимых и кислород-независимых микробицидных механизмов в сравнении со здоровыми лицами.

Ключевые слова: хронический бронхит, нейтрофилы, фагоцитоз, НСТ-тест, катионные белки, бактерицидная активность.

Среди заболеваний органов дыхания важное место принадлежит хроническому бронхиту. Актуальность этой проблемы определяется не только ростом заболеваемости, но и не всегда удовлетворительными результатами лечения. Оценка возможных исходов данного заболевания является сложной задачей пульмонологии. Перспективным путем является повышение эффективности прогнозирования течения и исхода хронического бронхита на основании поиска тестов, которые, с одной стороны, максимально отображали бы механизмы воспалительного процесса, а с другой – были бы доступны для использования в клинической практике.

В основе механизмов противoinфекционной защиты лежат сложные взаимоотношения организма хозяина и возбудителя. Полиморфизм и разнообразие факторов защиты определяют ее основные механизмы [2]. Защита организма от инфекции осуществляется путем взаимовлияющих реакций неспецифической резистентности (врожденного иммунитета) и адаптивного, или приобретенного, специфического, иммунитета.

Сразу после проникновения микроба в организм защита обеспечивается с помощью клеточных и гуморальных факторов естественной резистентности. Участие клеток первичного звена позволяет, по образному выражению А.Н. Маянского, «выиграть время для адаптивной перестройки иммунитета» [5], которую они же и запускают. Основное значение среди клеточных неспецифических механизмов иммунитета принадлежит фагоцитозу. На сегодняшний день известно, что, несмотря на важность поглощения и внутриклеточного переваривания микробов, основную роль в борьбе с микроорганизмами играют внеклеточные бактерицидный и литический эффекты фагоцитов. В процессе фагоцитоза происходит дегрануляция фагоцитов с высвобождением активных форм кислорода и азота, катионных белков, лизосомальных ферментов, которые и осуществляют эти эффекты. Особое значение это имеет в очаге воспаления, в силу чего эмиграция и активация фагоцитов – основной компонент воспаления.

Как известно, основными клетками-эффекторами острого воспаления являются нейтрофилы, хронического – моноциты/макрофаги. В то же время нейтрофилы участвуют в патогенезе и хронического воспаления, особенно в стадии обострения, поэтому исследования функционального состояния нейтрофилов при хроническом воспалении являются важными, в том числе и с точки зрения выработки возможных прогностических критериев течения и исхода процесса.

Исследования последних лет существенно расширили представления о механизмах развития воспалительного процесса в бронхолегочной системе, в основе которых лежит ряд нарушений, в частности дисбаланс цитокинов и угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов [8]. Это свидетельствует о значительной декомпенсации функционирования фагоцитирующих клеток и их неспособности сформировать адекватный функциональный ответ на микробные агенты. В экспериментальных исследованиях показано, что при хроническом воспалении фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови зависит от его течения, этиологии, этапа и может быть как повышена, так и снижена [3]. Помимо фагоцитарной функции и в связи с ней фагоциты обладают целым рядом других функций.

Приведенные данные указывают на целесообразность дальнейших исследований функциональной активности нейтрофилов периферической крови при хроническом бронхите.



**Цель исследования.** Изучение функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных хроническим бронхитом.

**Материалы и методы.** Обследовано 29 мужчин, больных хроническим бронхитом в стадии обострения, в возрасте от 21 года до 36 лет (средний возраст  $28,0 \pm 7,0$  лет). Длительность заболевания составляла в среднем  $4,8 \pm 1,7$  года. Диагноз ставили на основании комплексного клинического, лабораторного и инструментального обследования.

Функциональное состояние нейтрофилов периферической крови изучали по их фагоцитарной, кислород-зависимой, кислород-независимой и общей бактерицидной активности. Фагоцитарную активность определяли в тесте с латексом. Вычисляли фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ). Определение кислород-зависимой бактерицидной активности (общей окислительно-восстановительной, или метаболической, активности) проводили в спонтанном тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) по методу Стюарта в модификации Б.С. Нагоева. Кислород-независимую бактерицидную активность определяли на основании цитохимического выявления катионных лизосомальных белков (КЛБ) по методу М.Г. Шубича. Для дополнительной характеристики НСТ-теста и количества КЛБ в обоих случаях рассчитывали суммарный цитохимический коэффициент реакции (ЦХК) [7]. Также рассчитывали суммарную бактерицидную активность нейтрофилов (БАН) по формуле С.А. Гусевой [4].

Исследование проводили при поступлении больного в стационар. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц аналогичного возраста и пола.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы «STATISTICA-6,0». Рассчитывали средние арифметические значения ( $M$ ) и стандартные отклонения ( $m$ ). Достоверность изученных показателей определяли с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. Показатели считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты исследований и их обсуждение.** У 10% больных хроническим бронхитом в стадии обострения выявлен лейкоцитоз: общее количество лейкоцитов (ОКЛ) в крови составляло больше  $9,0 \times 10^9$  г/л, с лейкоцитарной формулой нейтрофильного типа, с ядерным сдвигом влево, до палочкоядерных нейтрофилов. У 42% пациентов ОКЛ было в пределах  $7,0 - 9,0 \times 10^9$  г/л и у 48% – до  $7,0 \times 10^9$  г/л.

При изучении фагоцитарной активности нейтрофилов крови было установлено, что ФИ у обследуемых больных на 24% ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у здоровых лиц. ФЧ ниже соответственно на 52% ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Значения показателей фагоцитарной активности у обследуемых больных уменьшились до нижней границы физиологической нормы для здоровых лиц.

Таблица 1

**Функциональная активность нейтрофилов периферической крови у больных хроническим бронхитом ( $M \pm m$ )**

Показатели	Контрольная группа	Больные хроническим бронхитом
ФИ, %	$61,54 \pm 3,87$	$46,34 \pm 2,18^*$
ФЧ, ед.	$6,39 \pm 0,63$	$3,07 \pm 0,27^*$
НСТ-тест, %	$32,23 \pm 5,16$	$52,69 \pm 4,31^*$
КЛБ, %	$76,42 \pm 5,54$	$89,28 \pm 2,63^*$

Примечание: \* – достоверно в сравнении с контрольной группой,  $p < 0,05$ .

Таким образом, в нашем исследовании наблюдалось угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови при хроническом бронхите, а именно снижение поглощательной способности фагоцитов.

Что касается внутриклеточных бактерицидных факторов, то установлено, что происходит значительная активация внутриклеточных микробицидных систем нейтрофилов. Активность кислород-зависимых механизмов в спонтанном НСТ-тесте достоверно превышала (на 38%,  $p < 0,05$ ) показатели здоровых лиц. ЦХК НСТ-теста у больных хроническим бронхитом достоверно увеличивался – до  $69,57 \pm 6,43$  у.е. против  $48,4\% \pm 4,76$  у.е. в контрольной группе (на 30%,  $p < 0,05$ ). НСТ-тест интегрально характеризует активность внутриклеточных кислород-зависимых антимикробных систем фагоцитов. Спонтанный НСТ-тест позволяет оценить степень антигенного раздражения гранулоцитов крови в этих условиях функционирования организма. Полученные данные свидетельствуют об адекватном ответе нейтрофилов на воспалительный процесс по данному параметру.



Применительно к кислород-независимым механизмам микробицидной активности установлено, что у больных хроническим бронхитом наблюдался значительно больший процент КЛБ-зависимых нейтрофилов и соответствующий ЦХК в сравнении с показателями практически здоровых лиц. Так, количество клеток с гранулами, которые содержат КЛБ, было на 11% ( $p < 0,05$ ) больше, а ЦХК реакции на КЛБ увеличивался до  $212,6 \pm 8,75$  у.е. против  $119,26 \pm 7,06$  у.е. (на 44%,  $p < 0,05$ ). По своей природе КЛБ являются модификаторами дыхательных и ферментативных процессов в фагоците, медиаторами воспаления, обладают цитотоксической, хемотаксической и иммуномодулирующей активностью, повышают проницаемость сосудов [1, 6]. Высокий уровень КЛБ в фагоцитах свидетельствует о значительной бактерицидности фагоцитов, активации механизмов завершённости фагоцитоза и является прогностическим признаком благоприятного течения воспалительного процесса. По данным И.И. Долгушина [1], количество антимикробных пептидов может быть использовано в качестве маркера системной активации фагоцитарной системы.

С.А. Гусевой предложен интегральный показатель БАН, который отображает суммарную бактерицидную активность с учетом активности двух систем нейтрофилов: кислородной и бескислородной [4]. В нашем исследовании при расчете БАН установлено, что при хроническом бронхите этот показатель составляет  $18,57 \pm 0,43$  у.е., что в 3,03 раза ( $p < 0,05$ ) больше, нежели у здоровых лиц ( $6,12 \pm 0,06$  у.е.). Полученные результаты свидетельствуют о значительной активации микробицидных процессов в нейтрофилах периферической крови.

Поскольку по другим параметрам функциональная активность нейтрофилов, напротив, повышается, обнаружено снижение поглотительной способности нейтрофилов, по видимому, связано с недостаточностью опсонизирующих факторов. К опсонинам относятся молекулы антител (преимущественно IgG и IgM классов), фрагменты компонентов комплемента — C3b, C4b, C5b, Bb, белки острой фазы и др. Не исключено также, что при хроническом воспалении возможна диссоциация показателей функциональной активности нейтрофилов. Как известно, хроническое воспаление характеризуется утратой воспалительной реакцией своей эволюционной защитно-приспособительной функции и превращением ее в самостоятельный патогенный фактор, лежащий в основе многих хронических заболеваний.

Проведенные исследования показали, что изучение внутриклеточных компонентов нейтрофилов при хроническом бронхите дает дополнительную информацию о развитии патологического процесса и расширяет диагностические возможности с точки зрения объективной оценки факторов неспецифической резистентности, которые играют важную роль при воспалительных процессах.

#### **Выводы.**

1. У больных хроническим бронхитом в стадии обострения установлено снижение поглотительной способности нейтрофилов периферической крови одновременно с активацией их кислород-зависимых и кислород-независимых микробицидных механизмов.

2. Учитывая простоту выполнения и высокую воспроизводимость, цитохимические тесты можно рекомендовать для практического использования в клинических условиях с диагностической и прогностической целью, а также для оценки состояния неспецифической резистентности у больных хроническим бронхитом.

#### **Литература**

1. Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гемостаз / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург, 2001. – 254 с.
2. Железникова, Г. Ф. Инфекция и иммунитет: стратегии обеих сторон / Г. Ф. Железникова // Медицинская иммунология. — 2006. — Т. 8, № 5-6. — С. 597-614.
3. Клименко, Н.А. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови крыс в зависимости от течения и этиологии воспаления / Н.А. Клименко, С.В. Татарко // Досвід і проблеми застосування сучасних морфологічних методів досліджень органів і тканин у нормі та при діагностиці патологічних процесів : наук.-практ. конф., Тернопіль, 24-25 травня 2007 р. : зб. матер. конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2007. – С. 54-55.
4. Клінічна та лабораторна імунологія/ за ред. Л.В. Кузнецової, В.Д. Бабаджана, В.М. Фролова. – Київ: Полиграф плюс, 2012. – 922 с.
5. Маянский, А. Н. НАДФН-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция / А.Н. Маянский // Цитокины и воспаление. — 2007. — Т. 6, № 3. — С. 3-13.
6. Никулин, Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса / Б.А. Никулин. – М.: Геотар Медиа, 2007. – 374 с.
7. Посібник з лабораторної імунології / Л.Є. Лаповець, Б.Д. Луцик, Г.Б. Лебедь, В.М. Акімова. – Львів, 2008. – 268 с.
8. Platz, J. Microbial DNA induces a host defense reaction of human respiratory epithelial cells / J. Platz, C. Beisswenger // The Journal of Immunology. — 2004. — Vol. 173, N 2. — P. 1219-1223.



## FUNCTIONAL ACTIVITY OF PERIFERAL BLOOD NEUTROPHILS IN CHRONIC BRONCHITIS

**N.A. KLIMENKO<sup>1</sup>**  
**M.A. SHELEST<sup>2</sup>**

*<sup>1)</sup> Kharkiv Medical Academy  
of Postgraduate Education*

*<sup>2)</sup> Kharkiv National Medical University*

*e-mail: kafedra\_ag @ mail.ru*

The phagocyte and bactericide activities of peripheral blood neutrophils have been studied in patients with chronic bronchitis exacerbation. A reduction in ingestion activity of neutrophils with simultaneous activation of their oxygen-dependent and oxygen-independent bactericide mechanisms in comparison to healthy people has been established.

Keywords: chronic bronchitis, neutrophils, phagocytosis, NBT-test, cationic proteins, bactericide activity.