

Зміни площі та вмісту мієлопероксидази нейтрофілів у хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легенів

**М. М. ПІТЕНЬКО, Д. О. БУТОВ, Д. О. ДУШАТКІНА,
Т. О. РОГАЧЕВСЬКА, В. П. МАРЧЕНКО, Т. С. БУТОВА**

м. Харків

Проведено дослідження площі та вмісту мієлопероксидази (МП) у нейтрофілах (НФ) у 29 відносно здорових людей та 31 хворого на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень. Встановлено, що у хворих на інфільтративний туберкульоз легень у зрівняльні з практично здоровими людьми виявлена активізація морфофункціонального стану НФ: площа НФ збільшилась, гранули МП є більш крупні, вони розташовані по периферії НФ, оптична щільність цитоплазми при поставленні цитохімічної реакції на МП підвищена, що може вказувати на активну участь НФ у формуванні протитуберкульозного імунітету. Стандартна місячна протитуберкульозна терапія не змінює морфофункціональний стан НФ.

Ключові слова: туберкульоз, мієлопероксидаза, нейтрофіли, туберкульоз легенів

Вступ

Відомо, що нейтрофіли (НФ) відіграють важливу роль у неспецифічному імунітеті, фагоцитозі та екстроцелюлярному лізисі [3, 14]. У той же час їх роль у запаленні при туберкульозі, цих клітин, майже не вивчена [1, 3, 6, 7, 9, 13]. НФ є дзеркалом гомеостазу, тому що сприймаючи перші сигнали про дестабілізацію внутрішнього середовища вони змінюють свій функціональний стан і фокусують, немов у дзеркалі, порушення гомеостазу – від латентних до клінічно виражених форм [1, 6]. НФ фагоцитують бактерії, гриби (у тому числі мікобактерії туберкульозу (МБТ) [7, 14, 16, 15]) і продукти розпаду тканин, руйнуючи їх своїми лізосомальними ферментами (такими як мієлопероксидаза (МП)). Завдяки цьому вони відіграють ключову функцію у руйнуванні чужорідних клітин. Інфільтруючи периваскулярну сполучну тканину, нейтрофільні гранулоцити переміщуються до місця ушкодження і беруть активну участь у фагоцитарному процесі [2, 8, 12].

Деякі автори відмічають антимікобактеріальні властивості МП [5, 10]. При вираженій перевазі ексудативного компонента у загальній картині туберкульозного запалення спостерігається зниження рівня МП у звичайних клітинах тканини, де розгортається це запалення. Крім антибактеріальної активності, МП може підвищувати проникність мікроорганізму оболонки і, таким чином, підвищити проникність протитуберкульозних препаратів у саму клітину збудника. Ще однією важливою особливістю є те, що МП зберігає каталітичну активність у широких діапазонах рН, що допомагає їй бути активною у різних

патологічних середовищах. Вважають, що після абсорбції на поверхні мікроорганізму МП виконує сполучену реакцію і потім утворює гіпохлорид, який прямо атакує бактеріальну клітину. Продукти реакції МП (30-50%) здатні окислювати бактеріальні компоненти на протязі декількох годин [18]. Бактерицидний ефект МП також зв'язують із здатністю цього ферменту продукувати у процесі функціонування високоактивні компоненти антибіотичних агентів [17]. Крім того, МП забезпечує ще важливий елемент фагоцитозу НФ – це знищення мікроорганізмів за межами клітини завдяки викиду НФ МП [8]. Прийнято вважати, що НФ при туберкульозі відіграють значну роль при генералізації процесу, тобто при виході МБТ у кров [2, 7, 9, 10, 16]. У доступній нам літературі можливі функції НФ при локалізованому туберкульозному процесі не зустрічалися. Також нам не вдалося спостерігати у літературі, чи змінюються НФ у людини, коли вона захворіє на туберкульоз.

Ціллю нашого дослідження є вивчення площі та вмісту МП НФ у відносно здорових людей та хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень до лікування і після місяця стандартної протитуберкульозної терапії.

Матеріали і методи дослідження

Під нашим спостереженням був 31 хворий – (чоловіків – 27, жінок – 4) на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень у віці від 21 до 60 років, котрі лікувалися у Обласному протитуберкульозному диспансері № 1 м.Харків. У всіх хворих спостерігався інфільтративний туберкульоз. Хворі отримували антимікобактеріальну терапію по першій категорії, п'ятикомпонентний режим. Всі хворі туберкульозом були обстежені з застосуванням обов'язкових та додаткових методів дослідження.

Супутня патологія у хворих зареєстрована у 19 (13,5%), у деяких хворих було поєднання різних хвороб. Бактеріовиділення виявлено у 29 хворих (93,5%) осіб.

Контрольну групу склали 29 практично здорових людей.

Дослідження проведено на мазках крові у ранкові часи (8–9 годин ранку) натще, як практично здоровим, так і хворим на туберкульоз у перші дні та через місяць проведеної терапії. Мазки крові були фарбовані методом Грехема-Кноллюя [4]. Вимірювання площі НФ та визначення оптичної щільності цитоплазми визначалась за методом Ташке К. [11]. Кількісний аналіз проводився з використанням мікроскопу «Ахіостар plus» (Ziess, Німеччина) з морфометрією за допомогою програмного забезпечення мікроскопу (ВидеоТест, Росія).

Результати

У групі відносно здорових людей гранули МП у цитоплазмі НФ знаходяться у неупорядкованому стані, а у хворих на туберкульоз спостерігається концентрація гранул МП біля клітинної стінки у вигляді «бус», і самі по собі розміри цих гранул – більші за об'ємом та кількістю. Після проведеної терапії, через місяць у хворих спостерігали ще більшу концентрацію гранул МП на периферії клітини. Це свідчить про можливо більш ефективну дію (викид) МП при туберкульозному запаленні у хворих.

При виконанні цитометричного дослідження виявили (таблиця 1), що до початку лікування розміри НФ у хворих достовірно більші, ніж у осіб контрольної групи. Після проведеної місячної стандартної протитуберкульозної терапії, даний показник у хворих на туберкульоз суттєво не відрізняється від початкового показника цієї ж групи, що у свою чергу може бути несприятливим фактором у розвитку патологічного процесу під впливом застосованої терапії у продовж місяця лікування.

Оптична щільність цитоплазми НФ крові у мазках, пофарбованих для вивчення МП, у хворих на туберкульоз (таблиця 1) до початку лікування була значно підвищена проти контрольної групи. При проведенні чергового дослідження через місяць ми спостерігали відсутність зміни у хворих на туберкульоз.

Таблиця 1

Зміни площі та вмісту мієлопероксидази нейтрофілів у хворих на туберкульоз та відносно здорових людей ($M \pm m$)

Групи	Площа нейтрофілів, μm^2		Кількість мієлопероксидази у нейтрофілах, у.о.опт.щ.	
	До лікування	Через місяць проведеної терапії	До лікування	Через місяць проведеної терапії
Хворі на туберкульоз	131,6 \pm 3,24	133,7 \pm 1,49	0,0874 \pm 0,0031	0,0878 \pm 0,0032
Практично здорові люди	122,4 \pm 1,58		0,0549 \pm 0,0025	

Примітка: – міжгрупова різниця достовірна, $p \leq 0,05$

Таким чином, як візуальне, так і морфометричне порівняння морфофункціонального стану НФ крові дозволяє стверджувати, що при туберкульозі в організмі спостерігається активізація НФ, що опосередковано підтверджують участь НФ у формуванні протитуберкульозного імунітету. Після місяця стандартної протитуберкульозної

терапії ми не виявили морфофункціональних змін НФ, що видно за відсутністю зміни, як розміру НФ, так і вмісту МП у цих клітин. Це можливо розцінити, як недолік використаної стандартної патогенетичної та хіміотерапії терапії. Необхідно працювати над розробкою нових схем лікування патогенетичної терапії, які б забезпечили морфофункціональну активізацію НФ.

Висновки

1. У хворих на інфільтративний туберкульоз у порівнянні з практично здоровими людьми виявлена активізація морфофункціонального стану НФ: розміри НФ збільшились, гранули МП більш крупні, розташовані по периферії НФ, оптична щільність цитоплазми при постановці цитохімічної реакції на МП підвищенна, що може вказувати на активну участь НФ у формуванні протитуберкульозного імунітету.

2. Стандартна місячна протитуберкульозна терапія не змінює морфофункціональний стан НФ.

Література

1. Адо А.Д. Современное состояние учения о фагоцитозе / А.Д. Адо, А.Н. Маянский // Иммунология. – 1983. – № 1. – С. 20–26.
2. Апоптоз нейтрофилов та його роль в патогенезі запальних процесів в легенях туберкульозного та неспецифічного генезу / І.Ф. Ільїнська, О.М. Рекалова, Л.В. Ареф'єва [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2007. – № 2. – С. 32–38.
3. Ільїнська І.Ф. Інфікованість мікобактеріями туберкульозу та індукований ними апоптоз фагоцитуючих клітин при туберкульозі / І.Ф. Ільїнська, О.М. Зубрійчук // Український пульмонологічний журнал. – 2009. – № 1. – С. 33–36.
4. Лабораторные методы исследования в клинике / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
5. Маслов А.К. Роль миелопероксидазы макрофагов в процессе взаимоотношений хозяин-паразит при лепре / А.К. Маслов // Проблемы туберкулеза. – 1995. – № 2. – С. 56.
6. Маянский А.Н. Реактивность нейтрофила / А.Н. Маянский, А.Н. Галиуллин. – Казань: Изд-во Казанского университета, 1984. – 159 с.
7. Маянский А.Н. Туберкулез (микробиологические и иммунопатогенетические аспекты) / А.Н. Маянский // Иммунология. – 2001. – № 2. – С. 53–63.
8. Михайлов В.В. Основы патологической физиологии [руководство для врачей] / В.В. Михайлов. – М.: Медицина, 2001. – 704 с.
9. Найда І.В. Фагоцитуючі клітини та їх роль при туберкульозі / І.В. Найда // Український пульмонологічний журнал. – 2001. – № 3. – С. 67–71.
10. Роль нейтрофилов в регуляции иммунной реактивности и репаративных реакций поврежденной ткани / И.И. Долгушин [и др.] // Вестник РАМН. – 2000. – № 2. – С. 14–17.
11. Ташке К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию / Ташке К. – Бухарест: Издательство Академии Социалистической Республики Румыния, 1980. – 92 с.
12. Физиология человека / под ред. Р. Шмида, Г. Тевса. – М.: Мир, 1996. – Т. 2. – 313 с.

13. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов / И.С. Фрейдлин. – М.: Медицина, 1984. – 271 с.
14. Цитокины в оценке иммунной системы у больных туберкулезом легких / Е.Ф. Чернушенко, Л.П. Кадан, О.Р. Панасюкова [и др.] // Український пульмонологічний журнал. – 2010. – № 2. – С. 39–43.
15. Чернушенко Е.Ф. Диагностика вторичных иммунодефицитных состояний / Е.Ф. Чернушенко // Мистецтво лікування. – 2006. – № 2. – С. 10–15.
16. Чернушенко К.Ф. Протитуберкулезный иммунитет / К.Ф. Чернушенко // Лабораторна діагностика. – 2001. – № 2. – С. 3–7.
17. Allen R.C. Halide dependence of the myeloperoxidase-mediated antimicrobial system of the polymorphonuclear leukocyte in the phenomenon of electronic excitation / R.C. Allen // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 1975. – Vol. 63, № 3. – P. 675–683.
18. Thomas E.L. Myeloperoxidase, hydrogen peroxide, chloride antimicrobial system: nitrogen-chlorine derivatives of bacterial components in bactericidal action against *Escherichia coli* / E.L. Thomas // Infect. and Immun. – 1979. – Vol. 23 (2), № 2. – P. 522–531.

Изменение площади и содержания миелопероксидазы нейтрофилов у больных впервые диагностированным деструктивным туберкулезом легких

**Н.Н. ПИТЕНЬКО, Д.А. БУТОВ, Д.А. ДУШАТКИНА,
Т.А. РОГАЧЕВСКАЯ, В.П.МАРЧЕНКО, Т.С.БУТОВА**

Проведено исследование площади и содержание миелопероксидазы (МП) в нейтрофилах (НФ) у 29 относительно здоровых людей и 31 больного впервые диагностированным деструктивным туберкулезом легких. Установлено, что у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких по сравнению с практически здоровыми людьми выявлена активизация морфофункционального состояния НФ: площадь НФ увеличилась, гранулы МП более крупные, они располагаются по периферии НФ, оптическая плотность цитоплазмы при постановлении цитохимической реакции на МП повышена, что может указывать на активное участие НФ в формировании противотуберкулезного иммунитета. Стандартная месячная противотуберкулезная терапия не изменяет морфофункционального состояния НФ.

Ключевые слова: туберкулез, миелопероксидаза, нейтрофилы, туберкулез легких

Change area and contents myeloperoxidase neutrophils of newly diagnosed destructive pulmonary tuberculosis patients

**N.N. PITENKO, D.A. BUTOV, D.A. DUSHATKINA,
T.A. ROGACHEVSKAYA, V.P. MARCHENKO, T.S. BUTOVA**

Study area and contents myeloperoxidase (MP) neutrophils (NP) of 29 almost health people and 31 newly diagnosed destructive pulmonary tuberculosis patients was conducted. It is proved that patients with infiltrative tuberculosis in comparison with almost healthy donors have activation of morphofunctional blood NP condition: NP size is increased, MP granules are bigger, they are situated on the NP periphery, cytoplasm optical density when carrying out a cytochemical reaction on MP is increasing (it can point out active participation of NP in antituberculous immunity forming). Standard monthly antituberculous therapy doesn't change NP morphofunctional condition.

Key words: tuberculosis, myeloperoxidase, neutrophils, pulmonary tuberculosis