УДК 616.248-097-053.4

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

М.С. Бабайлов, Г.В. Брюхин, Я.И. Жаков
ЧелГМА, г. Челябинск

Проведена оценка функционального состояния альвеолярных макрофагов у детей с легкой персистирующей бронхиальной астмой контролируемого и неконтролируемого течения. Установлено снижение поглотительной способности и киллинговой активности альвеолярных макрофагов, что можно рассматривать как одно из патогенетических звеньев, определяющих тяжесть течения бронхиальной астмы у детей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, альвеолярные макрофаги.

Согласно Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA, пересмотр 2007 г.), бронхиальная астма – это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, в котором принимают участие многие клетки и клеточные элементы [2]. Одна из популяций клеток – альвеолярные макрофаги, так же участвуют в развитии воспаления дыхательных путей и, более того, являются доминирующими иммунными клетками – эффекторами альвеолярного пространства и воздухопроводящих дыхательных путей [3, 7].

Принимая во внимание важную роль в осуществлении метаболической и дренажной функции легких, в защите от ингалируемых микроорганизмов, пылевых частиц и эндогенных токсичных факторов, а так же участие в регуляции иммунного ответа, альвеолярные макрофаги до сих пор незаслуженно остаются малоизученными, «теневыми» клетками в патогенезе бронхиальной астмы.

Исходя из вышесказанного, целью настоящего исследования явилась комплексная оценка фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов, полученных путем индуцирования мокроты у детей с легкой персистирующей бронхиальной астмой.

Материалы и методы исследования: в исследование были включены дети, находящиеся на обследовании и лечении в детском аллергологическом отделении МУЗ ГКБ № 1 г. Челябинска.

Критерии включения в исследование:

1. Возраст детей от 5 до 15 лет.

2. Отсутствие острых респираторных заболеваний в течение 1 месяца предшествующего исследованию.

3. Отсутствие базисной терапии бронхиальной астмы или использование в качестве базисной терапии препаратов группы кромонов (Интал, Тайлед).

4. Согласие родителей участвовать в исследовании.

Критерии исключения:

1. Табакокурение.

2. Использование в качестве базисной терапии бронхиальной астмы ингаляционных ГКС в течение последних 4 месяцев.

Согласно критериям включения/исключения, в исследование было включено 30 детей. Оценка контролируемости производилась согласно критериям, изложенным в GINA пересмотра 2007 года [2].

В ходе исследования были сформированы 3 группы:

– 1-я группа (n = 10) – дети с контролируемым течением легкой персистирующей бронхиальной астмы;

– 2-я группа (n = 10) – дети с неконтролируемым течением легкой персистирующей бронхиальной астмы;

– 3-я группа (n = 10) – группа сравнения (дети, находящиеся на стационарном лечении кардиоревматологического отделения городской клинической больницы № 1, не имеющие аллергических заболеваний).

Средний возраст обследованных детей (Me) – 11,16 ± 3,13 года.

Стаж заболевания бронхиальной астмой у обследуемых детей составил 4,05 ± 2,62 года.

Индукция мокроты проводилась с использованием гипертонического раствора хлорида натрия по модифицированному протоколу [4]. Альвеолярные макрофаги из полученной мокроты выделялись общепринятым методом в нашей модификации (подана заявка на выдачу патента РФ на изобретение, получена приоритетная справка № 2010138744 от 20.09.2010).

Согласно клиническим постулатам И.И. Мечникова, фагоцитоз включает, прежде всего, поглощение и переваривание поглощенных частиц. В связи с этим, фагоцитарную функцию альвеолярных макрофагов больных детей мы изучали по их способности к захвату сфер латекса [5].

Изучение фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов проводили на модели поглощения частиц латекса диаметром 1,2 мкм. Культи-

вирование производили в термостате при температуре 37 °С в течение 1 часа в условиях влажной камеры. После культивирования мазки фиксировали метиловым спиртом и окрашивали азуром II и эозином по Романовскому – Гимза. При оценке результатов определяли фагоцитарный показатель, отражающий процент макрофагов, содержащих частицы латекса, а также фагоцитарный индекс (количество частиц латекса в 100 макрофагах в перерасчете на 1 клетку). Кроме того, определяли общую фагоцитарную активность по формуле Астальди и Верга [1].

Функционально-метаболическую активность альвеолярных макрофагов, отражающую бактерицидный потенциал, оценивали в тесте спонтанного и стимулированного восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) по Park и соавт. [6]. Стимуляцию проводили с помощью инертных микросфер латекса (диаметр 1,2 мкм). Клетки инкубировали в растворе нитросинего тетразолия во влажной камере при температуре 37 °С. Результаты НСТ-теста оценивали в условных единицах по формуле Астальди и Верга.

Для оценки лизосомальной активности нами использовался метод, основанный на инкубации мононуклеарных фагоцитов в среде, содержащей флюоресцирующий краситель – акридиновый оранжевый, который вызывает избирательное свечение лизосом [5]. О лизосомальной активности макрофагов судили на основании анализа числа акридинпозитивных клеток и индекса лизосомальной активности, отражающего среднюю активность лизосомальных энзимов.

Результаты исследования. Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение, что у детей с бронхиальной астмой изменяется функциональное состояние альвеолярных макрофагов.

Как видно из таблицы, у детей первой группы (контролируемое течение легкой персистирующей бронхиальной астмы) число фагоцитов (фагоцитарный показатель) практически не отличалось от группы сравнения. В то же время фагоцитарный индекс альвеолярных макрофагов у данной группы детей был ниже по сравнению с группой сравнения. Так, если у детей группы сравнения фагоцитарный индекс составил 24,85 ± 5,47, то у детей с контролируемым течением бронхиальной астмы этот показатель был равен всего 16,15 ± 5,21.

У детей второй группы (неконтролируемое течение легкой персистирующей бронхиальной астмы) фагоцитарный показатель также практически не отличался от такового у детей группы сравнения. Так, если у детей группы сравнения фагоцитарный показатель составил 93,9 %, то у больных детей второй группы исследуемый показатель оказался равным 94,5 %. Наряду с этим, у детей с неконтролируемым течением легкой персистирующей бронхиальной астмы выявлено достоверное снижение фагоцитарного индекса (13,43 ± 5,24) относительно группы сравнения (24,85 ± 5,47). Обращает на себя внимание то, что у детей с контролируемым течением легкой персистирующей бронхиальной астмы фагоцитарный индекс оказался сниженным по сравнению с группой сравнения на 35 %, а у детей с неконтролируемым течением бронхиальной астмы на 46 %.

Таким образом, результаты данной серии исследований позволяют констатировать, что у детей с бронхиальной астмой имеет место снижение фагоцитарного индекса альвеолярных макрофагов по сравнению с контролем, в то же время фагоцитарный показатель, отражающий число альвеолярных фагоцитов, оказался практически неизмененным.

Изучение способности альвеолярных макрофагов детей с бронхиальной астмой восстанавливать нитросиний тетразолий позволило выявить ту же закономерность. Как видно на рис. 1, в исследуемых макрофагах больных детей интенсивность

Показатели фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа сравнения
Фагоцитарный индекс	16,15 ± 5,21	13,43 ± 5,24*	24,85 ± 5,47
Фагоцитарный показатель	94,5 %	94,5 %	93,9 %

Примечание. * значимость различий ($p < 0,05$) с группой сравнения.

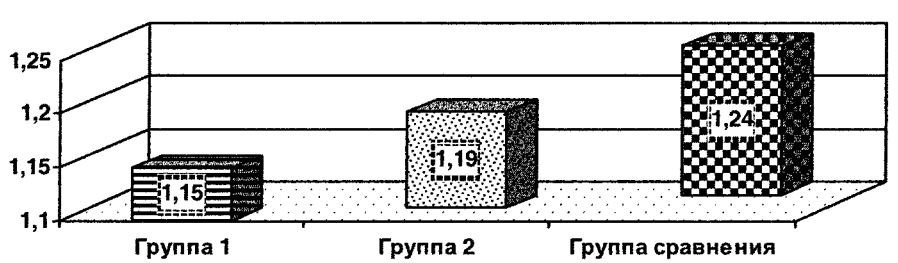

Рис. 1. Интенсивность спонтанного НСТ-теста (у. е.)

спонтанного НСТ-теста снижена относительно группы сравнения. Так, если у детей группы сравнения данный показатель составил 1,24 ± 0,42 у. е., то у детей первой и второй групп он оказался равным соответственно 1,15 ± 0,3 и 1,19 ± 0,35 у. е.

Активация макрофагов, связанная с процессом фагоцитоза, сопровождается существенным усилением поглощения нитросинего тетразолия и восстановлением его в диформазан, что положено в основу индуцированного НСТ-теста. Для стимуляции альвеолярных макрофагов в НСТ-тесте нами использовались микросферы латекса. Полученные результаты отражены на рис. 2.

флюоресцентного зондирования [5]. Полученные результаты отражены на рис. 3.

Как видно из рис. 3, число акридинораижпозитивных клеток (АО+) среди альвеолярных макрофагов у детей с бронхиальной астмой контролируемого (1-я группа) и неконтролируемого (2-я группа) течения ниже такового в группе сравнения. Так, если у детей группы сравнения данный показатель составил 94,5 %, то у больных детей обеих исследуемых групп число акридинпозитивных клеток оказалось равным соответственно 93,5 и 88,4 %. Обращает на себя внимание, что наименьшее число акридинпозитивных альвеолярных

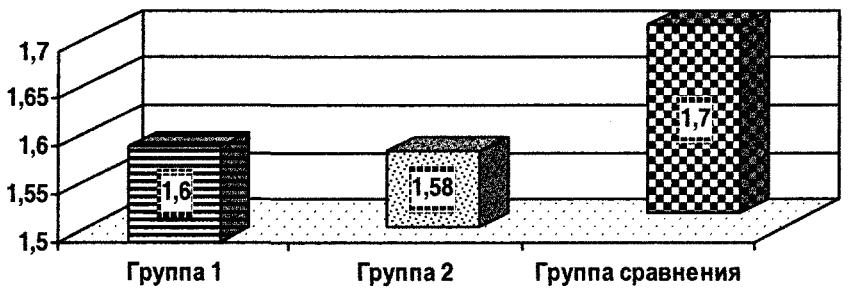

Рис. 2. Интенсивность индуцированного НСТ-теста (у. е.)

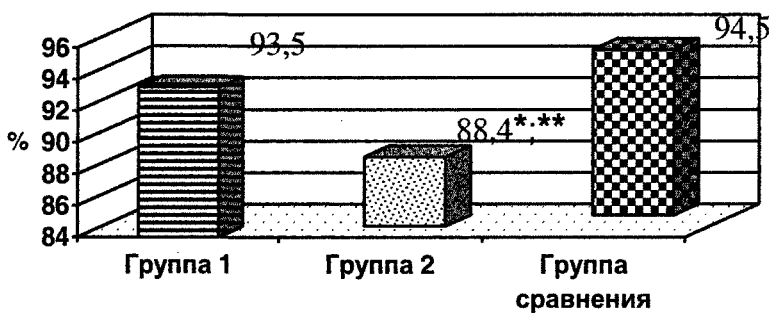

Рис. 3. Оценка лизосомальной активности альвеолярных макрофагов. Значимость различий (p < 0,05): * – с группой сравнения, ** – при сравнении с 1 группой

Как видно из рис. 2, метаболическая активность индуцированных альвеолярных макрофагов у детей с бронхиальной астмой контролируемого и неконтролируемого течения снижена относительно группы сравнения (1,7 ± 0,26 у. е.), о чем свидетельствуют более низкие показатели интенсивности НСТ-теста (1,6 ± 0,24 и 1,58 ± 0,25 у. е. соответственно). Обращает на себя внимание тот факт, что у детей группы сравнения коэффициент стимуляции НСТ-теста в альвеолярных макрофагах составил 1,47 ± 034. В то же время у детей с контролируемым течением бронхиальной астмы данный коэффициент несколько превысил таковой в контроле и составил 1,49 ± 0,47, а у детей с неконтролируемым течением бронхиальной астмы 1,38 ± 0,32.

Киллинговая функция макрофагов во многом определяется уровнем активности лизосомальных энзимов. Для оценки лизосомальной активности альвеолярных фагоцитов нами использован метод

макрофагов выявлено у детей с неконтролируемым течением легкой персистирующей бронхиальной астмы.

Наиболее важным индикатором лизосомальной активности является индекс, отражающий средний уровень лизосомальной активности из расчета на одну макрофагальную клетку (индекс лизосомальной активности).

Установлено, что индекс лизосомальной активности альвеолярных макрофагов детей с бронхиальной астмой снижен по сравнению с таковым у детей группы сравнения. Так, если у детей контрольной группы индекс лизосомальной активности альвеолярных макрофагов оказался равным 1,99 ± 0,1, то у больных детей первой и второй исследуемых групп данный показатель оказался достоверно ниже и составил 1,59 ± 0,32 и 1,48 ± 0,22 соответственно. Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее выраженное снижение лизосомальной активности выявлено у больных детей

с неконтролируемым течением легкой персистирующей бронхиальной астмы.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет сделать заключение о том, что у детей с бронхиальной астмой имеет место снижение, прежде всего, поглотительной способности альвеолярных макрофагов, о чем свидетельствует уменьшение фагоцитарного индекса. Кроме того, для альвеолярных макрофагов таких детей характерно угнетение киллинговой активности, на что указывает, с одной стороны, снижение кислородзависимых бактерицидных механизмов (снижение интенсивности гистохимической реакции НСТ-теста), а с другой – угнетение лизосомальной активности (уменьшение числа акридинпозитивных клеток и индекса лизосомальной активности). В целом, данные настоящего исследования позволяют предположить, что нарушение фагоцитарной активности альвеолярных фагоцитов можно рассматривать как одно из патогенетических звеньев, определяющих тяжесть течения бронхиальной астмы у детей.

Литература

1. Брюхин, Г.В. Функциональное состояние элементов системы мононуклеарных фагоцитов у потомства матерей с хроническим поражением печени различной этиологии / Г.В. Брюхин // Иммунология. – 1993. – № 4. – С. 63–65.

2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы. Пересмотр 2007 г. / под ред. А.Г. Чучалина. – М.: Атмосфера, 2008. – 108 с.

3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Атмосфера, 2008. – 108 с.

4. Пат. 2364341 Российская Федерация, МПК A 61 B 10/00, G 01 N 33/53. Способ получения индуцированной мокроты у детей для оценки степени и характера воспаления слизистой бронхов / В.И. Куличков, Ю.Л. Мизерницкий, О.Г. Рыбакова, Е.Е. Минина, Я.И. Жаков. – № 2008116364; заявл. 24.04.2008; опубл. 20.08.2009, Бюл. № 23. – 10 с.

5. Фрейдлин, И.С. Некоторые морфологические и функциональные характеристики моноцитов периферической крови человека, культивируемых in vitro / И.С. Фрейдлин, С.В. Немировский, Т.А. Рудакова // Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях. – Омск, 1976. – Вып. 4. – С. 13–14.

6. Фримель, Г. Иммунологические методы / Г. Фримель. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.

7. Peters-Golden, M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma / M. Peters-Golden // Am J. Respir Cell Mol Biol, 2004. – Vol. 31. – № 1. – P. 3–7.

Поступила в редакцию 13 февраля 2011 г.