

УДК 616.329–002:612.017

О. М. Татарчук, В. Є. Кудрявцева, К. Г. Гаркава

*Інститут гастроентерології АМН України
Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця*

СТАН ФАГОЦИТАРНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ З ВИРАЗКОЮ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ

Досліджено фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів у 48 хворих з виразкою дванадцятипалої кишки. Встановлено розлад фагоцитарної системи у цих хворих. Після проведеного лікування визначається лише тенденція до відновлення нормального функціонування системи первинного захисту, що вказує на необхідність включення до лікувального комплексу імунокоригуючих препаратів.

There were studied the neutrophilic granulocytes activity in 48 patients with the duodenal ulcer. The phagocytic system of the patients was disordered. The medical treatment results only in the tendency to recovery the function of primary protection. Complex of immunomodulators should be used for the ulcer treatment.

Вступ

Кожна система в організмі людини виконує свої життєво необхідні функції. Функції імунної системи – розпізнавання та видалення чужорідного агента з організму людини. При взаємодії «патоген – хазяїн» відбуваються, з одного боку, комплекс подій, які спрямовані на елімінацію мікроорганізму, а з іншого – «прагнення» патогена обійти захисні механізми організму [17]. Фагоцити формують першу лінію захисту; до їх завдань входить швидке реагування на пошкоджувальний фактор. До фагоцитів відносяться нейтрофіли – важливі ефекторні клітини імунної системи [9]. Нейтрофільні гранулоцити розглядають як клітини, які відіграють ключову роль у протиінфекційному захисті організму, завдяки їх здатності поглинати патогени, звільняти широкий спектр мікробіцидних компонентів і синтезувати вазоактивні та хемотоксичні ліпідні медіатори [8].

Нейтрофіли – носії готового ефекторного потенціалу, що володіють здатністю до швидкої його реалізації, головні учасники реакції відповіді на будь-які зміни у тканинах організму. У нормі нейтрофіли містяться в крові у неактивному стані. При стимуляції нейтрофілів активуються оксидази плазматичної мембрани, які запускають серію метаболічних реакцій. Відбувається швидка зміна метаболізму нейтрофілів з активацією внутрішньоклітинної мієлопероксидази, збільшення споживання та окислення глюкози, ріст споживання кисню та утворення активних форм кисню (АФК): супероксидного аніон-радикала, перекису водню, гідроксильного радикала та синглетного кисню [2]. Через декілька секунд після активації нейтрофілів рівень продукції АФК у них підвищується більше ніж у 100 разів. Основне джерело АФК в організмі – нейтрофільні гранулоцити крові. Активованій фермент *NADH*-оксидаза каталізує перетворення кисню на супероксид-аніон [7]. Володіючи вираженою бактерицидною дією, АФК виконують в організмі захисну роль [14].

Для здійснення бактерицидної активності потрібні метаболічні зміни. Якщо поглинені бактерії не змінюють метаболізм фагоцита, то бактерицидність слабка. Посилення метаболізму інтенсифікує окислення глюкози, що супроводжується створенням великої кількості високореактивних гідроксильних радикалів (*OH*) і супероксидних аніонів (*O₂*), які чинять бактерицидну дію відносно багатьох мікроорганізмів [5].

© О. М. Татарчук, В. Є. Кудрявцева, К. Г. Гаркава, 2006

170

Після досить тісного прикріплення фагоцитуючої клітини до клітини мішені (адгезії) вона поглинає об'єкт фагоцитозу. При цьому створюється так звана фагосома, або фагоцитарна вакуоль, яка формується за рахунок мембрани фагоцитарної клітини навколо частинки, яка поглинається. Така фагосома просувається в середину цитоплазми клітини в напрямку лізосом. Мембрани цих двох вакуолей зливаються в одну вакуоль – фаголізосому. Після утворення фаголізосоми починається процес травлення поглиненого чужорідного матеріалу. Вміст лізосомальних гранул важливий для знищення мікроорганізмів [12].

Ферменти, які містяться в лізосомальних гранулах, можуть руйнувати речовини двома механізмами. Перший із них – кисневонезалежний механізм – залучає гідролітичні ферменти (протейнази, катіонні білки, лізоцим), які здатні порушувати пептидоглікани бактеріальної клітини, та лактоферин (білок, який активно зв'язує залізо, необхідне для розмноження бактерій). Другий – кисневозалежний механізм руйнування мікроорганізмів – здійснюється за участю мієлопероксидази, яка каталізує розвиток токсичного впливу на різні мікроорганізми перекисами водню [3].

Мета фагоцитозу – повне біохімічне розщеплення вмісту фагосоми [14]. Процес фагоцитозу може бути завершеним, коли об'єкт практично розщеплюється та залишки перетравленого матеріалу викидаються із клітини, та незавершеним, коли мікроорганізми, що розмножуються, руйнують клітину, яка фагоцитує.

Токсигенні штами *Helicobacter pylori* викликають розвиток гострого запалення в слизовій оболонці шлунка з міграцією в цю зону нейтрофілів та їх активацією [13]. Зменшення вмісту у слизовій оболонці шлунка при хелікобактерній інфекції відновленого глутатіону свідчить про зниження активності антиоксидантної системи [15]. Взаємодія АФК з продуктами метаболізму сечовини *H. pylori* призводить до утворення сполук типу монохлораміну, які мають здатність пошкоджувати ДНК. Крім того, *H. pylori* – носій ферментів, здатних генерувати АФК [7].

Існують повідомлення про те, що штами *H. pylori*, які мають ген *cagA*, виживають у фагосомах фагоцитів. З'ясовано, що *H. pylori* здатний перешкоджати фагоцитозу гранулоцитами шляхом стійкого зв'язування з манозоспецифічним лектином *MBL*, який також виконує функції опсоніну та комплементактивуючого фактора [16]. Крім того, *H. pylori* має здатність продукувати ферменти, які використовує при внутріклітинному виживанні. Уреаза, каталаза та супероксиддисмутаза – важливі ферменти, які нейтралізують бактерицидні молекули людини та допомагають *H. pylori* уникнути руйнування у фагоцитах [11]. Супероксиддисмутаза нейтралізує H_2O_2 у фагоцитарних вакуолях, цим самим захищаючи мікроорганізм від дії метаболітів реактивного кисню. Взаємодія між факторами агресії *H. pylori* (аміак, вакуолізуючий цитотоксин, продукти «кисневого вибуху» тощо) та макроорганізмом визначає хід окисно-відновних процесів і порушення процесу фагоцитозу бактерій, що, в свою чергу, впливає на результат інфікування [1]. Дисфункції нейтрофільних гранулоцитів можуть бути різноманітними та проявлятися дефектами фагоцитарної активності, що дозволяє припустити суттєву роль хронічного інфекційного компонента в патогенезі виразкової хвороби дванадцятипалої кишки [10].

Вивчення механізмів розвитку виразкової хвороби дванадцятипалої кишки (ВХ ДПК), асоційованої з *Helicobacter pylori*, залишається актуальною проблемою і в наш час. Вирішальну роль у розвитку цієї патології відіграють фактори місцевого та системного імунітету. У зв'язку з цим вивчення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів має велике значення для діагностики та імунотерапії [10]. Мета даної роботи – визначити стан фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів у хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки, асоційовану з *H. pylori*.

Матеріал і методи досліджень

Досліджено венозну кров 48 хворих (19 жінок і 29 чоловіків віком від 21 до 75 років) з виразкою дванадцятипалої кишки, які перебували на лікуванні у клініці Інституту гастроентерології АМНУ. Контрольну групу склали 50 практично здорових людей-донорів (21 жінка та 29 чоловіків такої самої вікової категорії). Усі хворі розподілені на дві групи: I група – 25 хворих на ВХ ДПК, асоційовану з *H. pylori*, II – 23 хворих на ВХ ДПК без *H. pylori*.

Для визначення бактерицидної активності нейтрофілів периферичної крові використовували живу добову культуру *Staphylococcus aureus* (штам 25923) [6]. Інкубацію проводили при +37°C. Готували мазки, які фіксували у метанолі та фарбували за Романовським–Гімзе протягом 60 хвилин. Таке забарвлення дає можливість визначити стандартні показники фагоцитозу, такі як фагоцитарний індекс (ФІ – відсоток клітин, які вступили до фагоцитозу) та фагоцитарне число (ФЧ – середнє число бактерій, які взаємодіяли з однією клітиною). Із метою кількісної характеристики бактерицидної здатності нейтрофілів периферичної крові визначали індекс бактерицидності нейтрофілів (ІБН – бактерицидну здатність нейтрофілів, тобто клінінг-ефект відносно мікроорганізмів).

Важливий елемент фагоцитозу – респіраторний вибух, що відбувається після активації нейтрофілів, суть якого полягає у збільшенні споживання та утворенні активних форм кисню, активації реакцій гексозомонофосфатного шунта [2]. Методом, за допомогою якого вивчається здатність нейтрофілів генерувати активні форми кисню у процесі респіраторного вибуху, є реакція відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тесту) до диформазану. Крім цього, визначали цитохімічний показник активності (ЦПА) нейтрофілів [4]. Порівняльний аналіз відмінностей між середніми значеннями оцінювали за критерієм Стюдента. Відмінності двох показників вважались вірогідними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Дослідження дозволили виявити особливості функціонування киснево незалежних і кисневозалежних мікробіцидних систем у хворих з виразкою дванадцятипалої кишки. У пацієнтів відбувається активація *NADPH*-оксидазної системи нейтрофільних гранулоцитів (рис. 1), про що свідчить підвищення кількості формазан-позитивних клітин у 76,0 % хворих I групи ($p < 0,05$) та 69,6 % – II групи ($p < 0,001$). ЦПА у цих хворих достовірно знижено, що вказує на уповільнення дезінтеграції антигену у клітинах.

В усіх хворих виявлено кількісний дефіцит активно фагоцитуючих клітин, більше виражений у I групі хворих ($p < 0,05$). У I групі хворих на 27,0 %, а у II – на 13,0 % знижена функція захвату *S. aureus* нейтрофільними гранулоцитами периферичної крові. Необхідно відзначити, що поглинання нейтрофілами часток (клітин мікроорганізмів) не є власне фагоцитозом, а лише одним з його етапів. Наступний етап – перетравлення поглинутих часток. Тому ефективність фагоцитозу залежить саме від здатності фагоциту вбивати поглинуті мікроорганізми. Депресія функції перетравлення достовірно встановлена у 88,0 % хворих на ВХ ДПК, асоційовану з *H. pylori*.

Таким чином, при ВХ ДПК має місце зниження бактерицидної функції фагоцитів. Первинною причиною порушення процесу фагоцитозу може бути функціональна неповноцінність клітин, які фагоцитують, – наслідок дефекту бактерицидних систем. Крім того, пригнічення функціональних властивостей фагоцитів при ВХ ДПК пов'язане з дією інфекційно-токсичних агентів, а саме – інфекцією *H. pylori*.

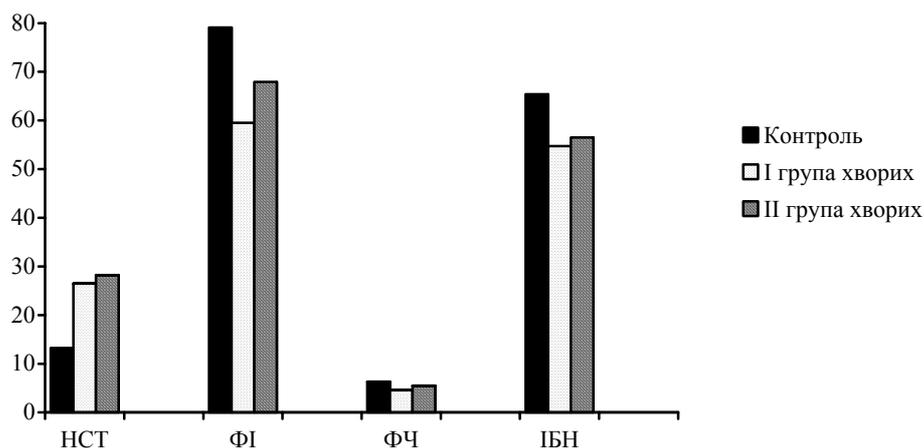


Рис. 1. Показники функціональної активності нейтрофілів у хворих з виразкою дванадцятипалої кишки: НСТ – реакція відновлення нітросинього тетразолію, ФІ – фагоцитарний індекс, ФЧ – фагоцитарне число, ІБН – індекс бактерицидності нейтрофілів.

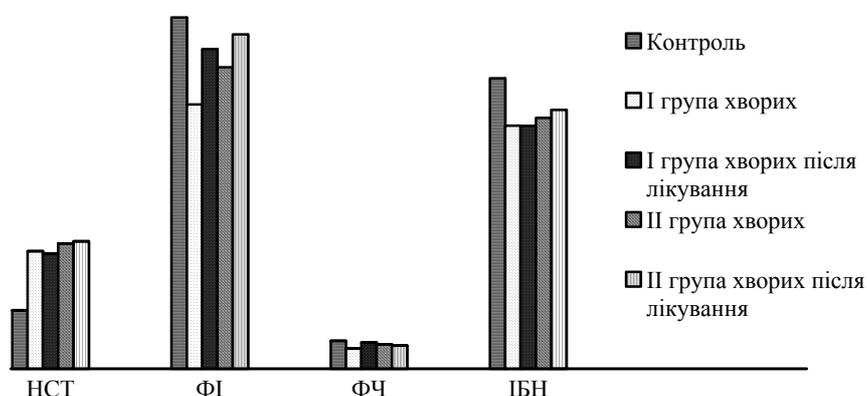


Рис. 2. Динаміка показників функціональної активності нейтрофілів у хворих із виразкою дванадцятипалої кишки: примітки див. рис. 1.

Показники функціонального стану фагоцитарної системи у обстежених хворих суттєво не змінилися після проведеного лікування. Повного відновлення функціональної активності нейтрофілів не встановлено. У хворих обох груп залишається «вибух» кисневозалежного метаболізму клітин, хоча потенціал функціональної активності клітин знижено (рис. 2).

У I групи хворих на 12,5 %, а у II групи – на 7,4 % підвищується відсоток клітин, які беруть участь у фагоцитозі. Встановлено підвищення фагоцитарного числа у 16,0 % хворих I групи та 17,4 % – II групи. Здатність перетравлювати поглинуті мікроорганізми у хворих I групи не змінюється, тоді як у 21,7 % хворих II групи цей показник підвищується.

Після проведеного лікування у обстежених груп хворих відновлення функціональної активності фагоцитів не встановлено.

Висновки

Виконані дослідження дозволили виявити особливості функціонування киснево-незалежних і кисневозалежних мікробіцидних систем у хворих на ВХ ДПК і показати, що ця патологія протікає на фоні дефектів фагоцитарної активності нейтрофілів. Після проведеного лікування у хворих на ВХ ДПК встановлюється лише тенденція до відновлення нормального функціонування системи первинного захисту імунітету, що вказує на необхідність включення до лікувального комплексу імунокоригуючих препаратів.

Бібліографічні посилання

1. **Бухарин О. В.** О некоторых механизмах персистенции *Helicobacter pylori* / О. В. Бухарин, В. А. Кириллов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2002. – № 2. – С. 89–94.
2. **Герасимов И. Г.** Неоднородность нейтрофилов в фагоцитозе и респираторном взрыве // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 6 – С. 34–36.
3. **Дамбаева С. В.** Некоторые особенности функционирования фагоцитарной системы у больных хронической гранулематозной болезнью / С. В. Дамбаева, Д. В. Мазуров, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2002. – № 2. – С. 87–93.
4. **Дранник Г. Н.** Способ оценки функциональной активности системы первичной клеточной антимикробной защиты крови / Г. Н. Дранник, О. В. Ковадев // Лаб. дело. – 1985. – № 10. – С. 617–620.
5. **Дранник Г. Н.** Клиническая иммунология и аллергология. – Одесса, 1999. – С. 448.
6. **Лабораторные методы** исследования клиники / Под ред. В. В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. **Нейко С. М.** До питання окислювального стресу в патогенезі виразкової хвороби / С. М. Нейко, В. Ю. Вишиванюк // Галицький лікарський вісник. – 2005. – Т. 12, № 1, ч. 2. – С. 116–118.
8. **Нестерова И. В.** Нейтрофильные гранулоциты и цитокиновая сеть / И. В. Нестерова, И. Н. Швыдченко // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 86.
9. **Олиферук Н. С.** Оценка фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов, макрофагов и незрелых дендритных клеток / Н. С. Олиферук, А. Н. Ильинская, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 10–13.
10. **Особенности** активационных процессов в мембране, цитоплазме и ядре нейтрофильных гранулоцитов при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / И. В. Нестерова, Е. В. Фомичева, И. Н. Швыдченко и др. // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 53–56.
11. **Пасиешвили Л. М.** Состояние и роль цитокинового звена иммунитета в становлении и прогрессировании заболеваний пищеварительного канала / Л. М. Пасиешвили, М. В. Моргулис // Сучасна гастроентерологія. – 2004. – № 3 (17). – С. 8–11.
12. **Плейфер Дж.** Наглядная иммунология. – М., 1999. – С. 20–23.
13. **Старосек В. Н.** Применение тиготриазолина в терапии острого панкреатита / В. Н. Старосек, И. И. Фомочкин, А. Н. Скромный // Здоров'я України. – 2004. – № 18 (103). – С. 40–41.
14. **Хаитов Р. М.** Иммунология / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатьева, И. Г. Сидорович. – М.: Медицина, 2000. – С. 61–63.
15. **Шостак С. Є.** Обґрунтування доцільності використання тиготриазоліну в комплексній терапії хворих на хелікобактерзалежні захворювання / С. Є. Шостак, М. І. Швед // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – № 3 (13). – С. 102–103.
16. **Allen L. A.** Virulent strains of *Helicobacter pylori* demonstrate delayed phagocytosis and stimulate homotypic phagosome fusion in macrophages / L. A. Allen, L. S. Schlesinger, B. Kang / J. Exp. Med. – 2000. – Vol. 191. – P. 115–128.
17. **Nau G.** Human macrophage activation programs induced by bacterial pathogens / G. Nau, J. Richmond, A. Schbesinger // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99, N 3. – P. 1503–1508.

Надійшла до редакції 11.01.06.