УДК 616.9-053.2-036.2

А.С. АЛИПБЕКОВА[1], Б.А. БОТПАЕВ[2]

[1]*Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Республика Казахстан,*
[2]*Урологический центр, г. Талгар, Республика Казахстан*

ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО СМЫВА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Алипбекова А.С.

В данной статье представлены результаты активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови и бронхоальвеолярного смыва у больных хронической обструктивной болезнью легких.

Цель исследования – функционально-метаболическая активность лимфоцитов, нейтрофильных гранулоцитов, альвеолярных макрофагов и различных звеньев иммунной системы в динамике развития "шокового" легкого и выявление взаимосвязи и значимости этих изменений в механизмах развития данной патологии.

Материал и методы. *Всего обследовано 53 больных в возрасте 18-60 лет. По степени тяжести болезни обследуемые были распределены на 3 группы. Контрольная группа – практически здоровые люди. Во время обследования осуществляли забор крови и бронхоальвеолярный лаваж с помощью бронхоскопии для последующего анализа. Определяли фагоцитарную активность нейтрофилов: фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) по методу Э.Н. Шляхова, А.П. Андриеша и окислительный метаболизм с применением спонтанного и стимулированного НСТ-теста по Д.Н. Маянскому с соавт..*

Результаты и обсуждение. *Полученные результаты позволяют говорить о существенных сдвигах на мембранах лимфоцитов у больных хронической обструктивной болезнью легких и объединении внутригранулярных и внутриклеточных запасов фермента для поддержания их энергетического баланса.*

Вывод. *Резюмируя данные, можно заключить, что для данной патологии характерны выраженное угнетение функции лимфоцитов и дисбаланс обменных процессов в иммунокомпетентных клетках.*

Ключевые слова: *сукцинатдегидрогеназа, бронхоальвеолярный смыв, больные хронической обструктивной болезнью легких.*

Для ссылки: *Алипбекова А.С., Ботпаев Б.А. Цитохимическое исследование активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови и бронхоальвеолярного смыва больных хронической обструктивной болезнью легких // Журн. Медицина. – 2015. – №3 (153). – С. 95-98*

В конце прошлого и начале нынешнего века большое внимание стали уделять нарушениям недыхательных или метаболических функций легких, с которыми связаны синтез, секреция и инактивация таких биологически активных соединений, как катехоламины, серотонин, гистамин, кинины, цитокины и другие [1, 2]. Вместе с тем, до сих пор недостаточно изучены роль и значимость клеточных систем лимфоцитов, нейтрофилов, альвеолярных макрофагов в развитии респираторного дистресс-синдрома, особенно их функционально-метаболической активности. Фрагментарны исследования по определению взаимосвязи биологических активных веществ, цитохимических компонентов лимфоцитов и нейтрофильных лейкоцитов с иммунной системой и их участию в патогенезе респираторного дистресс-синдрома, хотя имеются работы о существенных сдвигах в функционировании тромбоцитов, лейкоцитов и макрофагов при действии повреждающих факторов [3, 4].

В связи с этим полученные новые знания по этой проблеме могут стать основой для разработки новых подходов к коррекции и лечению респираторного дистресс-синдрома.

Цель исследования – комплексный и сравнительный анализ изменений показателей калликреин-кининовой системы, функционально-метаболической активности лимфоцитов, нейтрофильных гранулоцитов, альвеолярных макрофагов и различных звеньев иммунной системы в динамике развития "шокового" легкого и выявление взаимосвязи и значимости этих изменений в механизмах развития данной патологии.

Материал и методы

Механизмы патогенеза "шокового" легкого или респираторного дистресс-синдрома изучены у больных с хрониче-

Контакты: Алипбекова Айгуль Сураповна, старший преподаватель модуля нормальной физиологии, Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы. Моб. тел. + 7 771 384 18 57, e-mail: alipbek_aigul@mail.ru

Contact: Alipbekova Aygul Surapovna, senior instructor of Normal Physiology module, Kazakh National Medical University n.a. S.D. Asfendiyarov, Almaty c. Mob.tel. + 7 771 384 18 57, e-mail: alipbek_aigul@mail.ru

ской обструктивной болезнью легких. Всего обследовано 53 больных в возрасте 18-60 лет. По степени тяжести болезни обследуемые были распределены на 3 группы: I группа – с легкой степенью (16 больных), II группа – со средней степенью (19 больных), III группа – с тяжелой степенью (18 больных). Контрольная группа – практически здоровые люди (15 доноров). Во время обследования осуществляли забор крови и бронхоальвеолярный лаваж с помощью бронхоскопии для последующего анализа. Определяли фагоцитарную активность нейтрофилов: фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) по методу Э.Н. Шляхова, А.П. Андриеша [5] и окислительный метаболизм с применением спонтанного и стимулированного НСТ-теста по Д.Н. Маянскому с соавт. [6].

Результаты и обсуждение

Изменения метаболического состояния, лимфоцитов, нейтрофильных лейкоцитов и альвеолярных макрофагов изучены также у больных хронической обструктивной болезнью легких. Как показали результаты цитохимического исследования активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови и бронхоальвеолярного смыва у больных хронической обструктивной болезнью легких (рис. 1), прослеживается некоторое увеличение средней активности фермента в лимфоцитах периферической крови (32,9±1,5 гранулы на 1 клетку, P <0,05) по сравнению с ее уровнем у здоровых лиц (28±1,7). Но число интенсивно окрашенных гранул при этом составило 7,7±0,66, а это значит, что достаточно выраженной активностью обладали 23,7±1,8%.

Расчет дополнительных цитохимических параметров показал резкое уменьшение коэффициента асимметрии (А) до -0,59, указывающее на сдвиг популяции лимфоцитов в сторону клеточных пулов с низкой активностью сукцинатдегидрогеназы, что расценивается как угнетение иммунных функций.

Коэффициент эксцесса (Е), отражающий накопление клеток с атипичной активностью фермента, возрастал по отношению к его значению у доноров. По данным российских исследователей появление атипичных клеток обусловлено гипоксическими явлениями, происходящими на тканевом и клеточном уровнях.

Следовательно, полученные результаты позволяют говорить о существенных сдвигах на мембранах лимфоцитов у больных хронической обструктивной болезнью легких и объединении внутригранулярных и внутриклеточных запасов фермента для поддержания их энергетического баланса.

Вышеприведенные данные подтверждаются результатами исследованиями ферментативной активности лимфоцитов в бронхоальвеолярном смыве у больных хронической обструктивной болезнью легких (рис. 1). В частности, обнаружено снижение средней активности сукцинатдегидрогеназы (26,1±1,39%) относительно ее значений в периферической крови (P <0,01).

Значительно ниже в лимфоцитах периферической крови (23,7±1,8%), чем в лаважной жидкости, была доля интенсивно окрашенных гранул (31,4±1,5), однако достоверных различий между количеством интенсивно окрашенных гранул в

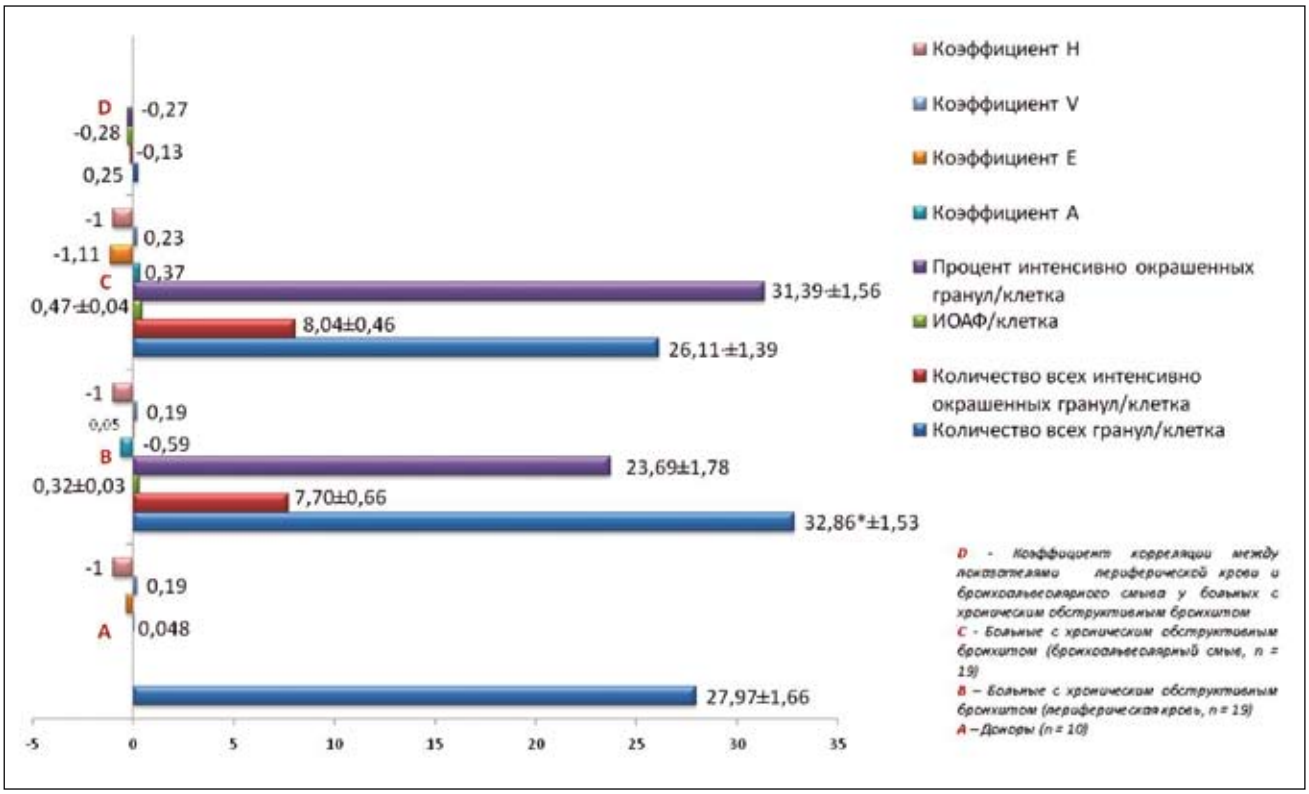

Рисунок 1 – Активность сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови и бронхоальвеолярном смыве у больных хронической обструктивной болезнью легких
Примечание: * P <0,05 изменения достоверны по сравнению с контролем.

Рисунок 2 – Активность сукцинатдегидрогеназы в клетках бронхоальвеолярного смыва у больных с хронической обструктивной болезнью легких
Примечание: * P <0,05 изменения между показателями достоверны; n – количество больных ХОБЛ

лимфоцитах бронхоальвеолярного смыва и периферической крови не обнаружено. В то же время отмечается увеличение индекса относительной активности фермента (ИОАФ) в лимфоцитах бронхоальвеолярного смыва по сравнению с лимфоцитами периферической крови (0,47±0,04 против 0,32±0,03). Такие изменения можно трактовать как более выраженную активацию лимфоцитов бронхолегочного аппарата (то есть активацию местного иммунитета). На это указывает и менее значительное уменьшение коэффициента асимметрии: 0,37 в бронхоальвеолярном смыве против -0,59 в периферической крови. Сниженным был и коэффициент эксцесса (-1,11) по отношению к его величине как в крови больных (+0,05), так и крови доноров (-0,31).

Сравнительный корреляционный анализ между показателями активности сукцинатдегидрогеназы в периферической крови и бронхоальвеолярном смыве показал наличие слабой положительной связи (r =+0,25) между уровнями средней активности фермента. Выявлена слабая отрицательная связь между количеством интенсивно окрашенных гранул (-0,13), индексами относительной активности фермента (-0,28) и процентом наиболее ферментактивных гранул (-0,27). Из этого следует, что только показатель общего количества гранул фермента в лимфоцитах периферической крови отражает аналогичную динамику изменений этого показателя в лимфоцитах бронхоальвеолярной системы. И, наоборот, чем ниже относительная активность сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови, тем она выше в лимфоцитах бронхоальвеолярного смыва. Но абсолютная величина коэффициента корреляции (0,25) указывает на слабую степень связи между показателями средней активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах бронхоальвеолярного смыва и периферической крови, что свидетельствует о недостаточной информативности этого показателя в лимфоцитах для оценки общего уровня активности фермента в лимфоидных клетках легкого при развитии хронического обструктивного процесса.

О более высокой сукцинатдегидрогеназной активности в изучаемых клетках бронхоальвеолярного смыва свидетельствуют и результаты цитохимического исследования в макрофагальных и структурно-железистых клетках бронхолегочной системы больных хронической обструктивной болезнью легких. Эти данные приведены на рис. 2. Из него видно, что преобладающее большинство альвеолярных макрофагов (99,95±0,05%) и клеток цилиндрического эпителия (98,53%±0,57) бронхоальвеолярного смыва содержали гранулы фермента.

Значение среднего цитохимического коэффициента для альвеолярных фагоцитов (1,59±0,06) превышало в 1,3 раза (P<0,01) величину этого показателя в клетках цилиндрического эпителия (1,23±0,04). При этом в альвеолярных макрофагах фермент определялся в виде подавляющего количества темно-синих гранул, в которых окислительно-восстановительный фермент СДГ содержится в большей степени.

Вывод

Резюмируя данные метаболического состояния лейкоцитов в крови и макрофагах бронхоальвеолярного содержимого больных, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, можно заключить, что для данной патологии характерны выраженное угнетение функции лимфоцитов и дисбаланс обменных процессов в иммунокомпетентных клетках.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Лейдерман И.Н. Синдром полиорганной недостаточности. Метаболические основы // Вестн. интенс. тер. – 1999. – № 2. – С. 8-13

2 Eberhard L.W., Morabito D.J., Matthai M.A. Initial severity of metabolic acidosis predicts the development of acute lung injury in severely traumatized patients // Crit. Care Med. – 2000. – V.28 (1). – P. 125-131

3 Kopp R., Kuhlen R., Max M. Evidence-based medicine in the therapy of acute respiratory distress syndrome // Intens. Care Med. – 2002. – V. 28. – P. 244-255

4 Wei X., Shi-hai X., Huo W. Role of platelet activating factor in pathogenesis of acute respiratory distress syndrome // Chin. Med. J. – 2007. – Vol. 20. – P. 1840-1844.

5 Шляхов Э.Н., Андриеш Л.П. Иммунология: справочное пособие. – Кишинев: Штиинца, 1985. – 279 с.

6 Маянский Д.Н., Шербаков В.И., Макарова О.П. Комплексная оценка функции фагоцитов при воспалительных заболеваниях: Методические рекомендации. – Новосибирск, 1988. – 32 с.

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

А.С. ӘЛІПБЕКОВА[1], Б.А. БОТПАЕВ[2]

[1] С.Ж. Асфендияров ат. Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы қ., Қазақстан Республикасы,
[2]Урология орталығы, Талғар қ., Қазақстан Республикасы

ӨКПЕНІҢ СОЗЫЛМАЛЫ ОБСТРУКТИВТІ АУРУЫНА ШАЛДЫҚҚАН НАУҚАСТАРДА ШЕТКІ ҚАН ЛИМФОЦИТТЕРІНДЕ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗА МЕН БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРЛЫ СҰЙЫҚТЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІН ЦИТОХИМИЯЛЫҚ ЗЕРТТЕУ

Бұл мақалада өкпенің созылмалы обструктивті ауруына шалдыққан науқастарда шеткі қан лимфоциттерінде сукцинатдегидрогеназа мен бронхоальвеолярлы сұйықтық белсенділігін зерттеу нәтижелері ұсынылған.

Зерттеу мақсаты – «шоктық» өкпенің дамуы динамикасында лимфоциттердің, нейтрофильді гранулоциттердің, альвеолярлы макрофагтар мен иммун жүйесінің әр түрлі буындарының функционалдық-метаболикалық белсенділігі.

Материал және әдістері. Барлығы 18-60 жастағы 53 науқас тексерілген. Аурудың ауырлық дәрежесі бойынша 3 топқа бөлінген. Бақылау тобы – практикалық сау адамдар. Тексеру кезінде кейіннен талдау үшін қан алу мен бронхоскопияның көмегімен бронхоальвеолярлы лаважды жүзеге асырған. Нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігін анықтаған: Э.Н. Шляхов, А.П. Андриеш әдісі бойынша фагоцитарлық индекс (ФИ) пен фагоцитарлық сан (ФС) және бірге авторлықпен Д.Н. Маянский бойынша спонтанды және ынталандырылған НСТ-тестіні қолданумен тотықтырушы метаболизм.

Нәтижелері және талқылауы. Алынған нәтижелер өкпенің созылмалы обструктивті ауруына шалдыққан науқастарда мембрана лимфоциттердегі едәуір өзгерістер және олардың энергетикалық балансын қолдау үшін гранулярішілік және жасушаілік қорлардың бірігуі туралы айтуға мүмкіндік береді.

Қорытынды. Деректерді түйіндей отырып, берілген патология үшін лимфоциттер функциясының айқын ауырлауы мен иммунокомпетентті жасушаларда айырбас процестерінің дисбалансы тән деп қорытындылауға болады.

Негізгі сөздер: *сукцинатдегидрогеназа, бронхоальвеолярлы жуынды, өкпенің созылмалы обструктивті ауруына шалдыққан науқастар.*

S U M M A R Y

A.S. ALIPBEKOVA[1], B.A. BOTPAYEV[2]

[1] Kazakh National Medical University n.a. S.D. Asfendiyarov, Almaty c., the Republic of Kazakhstan
[2]Urological Center, Talgar c., Republic of Kazakhstan

CYTOCHEMICAL EXAMINATION OF SUCCINATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES AND BRONCHOALVEOLAR WASHING AMONG PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE

This article contains results of succinate dehydrogenase activity in peripheral blood lymphocytes and bronchoalveolar washing among patients with chronic obstructive lung disease.

Objective of examination – functional metabolic activity of lymphocytes, neutrophil granulocytes, alveolar macrophages and various elements of immune system during progression of shock lung and detection of interconnection and significance of these changes in the mechanisms of such pathology progression.

Material and methods. 53 patients at the age of 18-60 years participated in this examination. The persons under examination were distributed in 3 groups with different severity of disease. Control group included – virtually healthy people. Examination consisted in blood sampling and bronchoalveolar lavage by means of bronchoscopy for conduction of further analysis. Determination of phagocytic activity of neutrophils also took place: phagocytic index (PI) and phagocytic count (PC) pursuant to the methodology of E.N. Shliakhov, A.P. Andriyesh and oxidative metabolism with application of spontaneous and stimulated Nitro Blue Tetrazolium Reduction Test (NST-test) as per D.N. Mayanskiy et al.

Results and discussion. Obtained results indicate significant shifts on lymphocytes' membranes among the patients with chronic obstructive lung disease and integration of intragranular and intracellular reserves of ferment in order to provide their energy balance.

Conclusion. Summarizing of the data allows concluding that apparent depression of lymphocytes' function and imbalance of metabolic processes in immunocompetent cells appear to be distinctive features of this pathology.

Key words: *succinate dehydrogenase, bronchoalveolar washing, patients with chronic obstructive lung disease.*

Статья поступила в редакцию 23.03.2015 г.