

І. Ф. Ільїнська, О. М. Рекалова, Л. В. Ареф'єва, Ю. О. Матвієнко
ІНТЕНСИВНІСТЬ ПОГЛИНАННЯ НАТИВНИХ ТА ОПСОНІЗОВАНИХ МІКОБАКТЕРІЙ
ФАГОЦИТУЮЧИМИ КЛІТИНАМИ IN VITRO У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ
ТА ХРОНІЧНІ НЕСПЕЦИФІЧНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського АМН України

Пошук нових методів лікування запальних захворювань легень ведеться в двох головних напрямках: створення препаратів з бактерицидними та бактеріостатичними властивостями, дія яких безпосередньо спрямована на етіотропний мікроорганізм, та застосування лікарських засобів, які активізують власні механізми елімінації внутрішньоклітинних бактеріальних патогенів [6–10]. Серед цих механізмів провідне місце належить фагоцитозу та апоптозу, першим етапом яких є поглинання мікроорганізмів фагоцитуючими клітинами хазяїна. Його пригнічення може бути головним чинником зниження протиінфекційної неспецифічної резистентності організму та гальмування специфічної імунної відповіді, що може призводити до незадовільних наслідків лікування хворих, а також сприяти формуванню незворотних змін у легенях [1–3, 6].

Розрізняють поглинання нативних бактерій, яке відноситься до уроджених механізмів природного антибактеріального захисту і здійснюється через манозні рецептори фагоцитуючих клітин, та поглинання опсонізованих мікроорганізмів. Неспецифічними опсонінами виступають в першу чергу компоненти комплементу (а також фібрoneктин крові), специфічними — антитіла. Поглинання бактерій, опсонізованих антитілами, здійснюється через рецептори до Fc-фрагменту Ig G (однаковими для Ig G-антитіл будь-якої специфічності), і у осіб, старших 0,5–1,5 року, характеризує набутий специфічний протиінфекційний імунітет, а у немовлят перших 6 місяців життя — материнський. Поглинання бактерій, опсонізованих компонентами комплементу, здійснюється через рецептори до компонентів комплементу, які у людини з'являються через 2 тижні після народження. Воно характеризує набутий природний неспецифічний механізм протиінфекційного захисту. Отже, поглинання інфекційних агентів *in vivo* реалізується усіма цими автономними шляхами, і для всебічної характеристики цієї функції вимагає визначення активності кожного з них. Проте здебільшого дослідники визначають здатність фагоцитуючих клітин до поглинання або лише нативних бактеріальних тест-об'єктів, або лише опсонізованих усіма тими опсонінами, що містяться у свіжій сироватці.

Одним із найпоширеніших видів внутрішньоклітинних патогенів є мікобактерії туберкульозу (МБТ), інфікованість якими має місце практично у 98 % дорослого населення України [10]. Інтенсивність поглинання фагоцитуючими клітинами нативних послаблених (авірулентних) живих або вбитих нативних мікобактерій туберкульозу віддзеркалює не лише здатність фагоцитуючих клітин до поглинання збудників туберкульозу, але й здатність клітин до поглинання будь-яких бактеріальних агентів, бо цей процес реалізується через манозні рецептори до глікопротеїнів (пептидогліканів), які входять до складу бактеріальної оболонки більшості бактерій [1–3, 6]. Існування специфічного компоненту фагоцитозу, обумовлене при-

сутністю протитуберкульозних антитіл (хоча б в мінімальних титрах), також має місце у більшості дорослого населення через його високу інфікованість [10]. З огляду на це дослідження здатності фагоцитуючих клітин до поглинання нативних та опсонізованих МБТ може бути корисним для оцінки функціонального стану фагоцитуючих клітин як у хворих на туберкульоз, так і у пацієнтів з хронічними неспецифічними захворюваннями бронхо-легеневої системи, етіологічним чинником яких виступає тривала персистенція патогенних бактеріальних мікроорганізмів, що підтримують хронічне запалення.

Інтенсивність поглинання мікобактерій, залежить:

- від функціонального стану самої фагоцитуючої клітини (тобто щільності експресії на її поверхні відповідних рецепторів: до Fc-фрагменту Ig G, до компонентів комплементу типів 1 (CR1), 3 (CR3), 4 (CR4) та манозних);
- від якості опсонізації, порушення якої можуть бути обумовлені низьким вмістом антитіл внаслідок гальмування антитілоутворення та/або низьким рівнем комплементу чи його окремих компонентів в сироватці крові;
- від присутності в сироватці крові факторів, що блокують відповідні мембранні рецептори клітин (зокрема, циркулюючих імунних комплексів, антигенів при антигенемії, антиманозних антитіл, тощо).

Зрозуміло, що існування різних механізмів, що обумовлюють зміни поглинальної здатності фагоцитів, вимагає і різних підходів до їх корекції. Тому метою даного дослідження було проведення одночасної оцінки інтенсивності поглинання фагоцитуючими клітинами крові нативних та опсонізованих антитілами і комплементом атенуйованих мікобактерій для визначення частоти, варіантів та можливих механізмів порушення цієї функції фагоцитів при специфічному (туберкульозному) та неспецифічному хронічному запаленні легень.

Матеріали та методи дослідження

Визначення інтенсивності поглинання нативних та опсонізованих мікобактерій фагоцитуючими клітинами *in vitro* було проведено у 26 здорових осіб, 90 хворих на туберкульоз легень та 36 хворих на хронічні неспецифічні захворювання легень, які перебували на стаціонарному лікуванні у відділеннях Інституту фтизіатрії та пульмонології АМН України, за власною методикою. Для цього здійснювали інкубацію моношару адгерентних фагоцитуючих клітин з нативними мікобактеріями та мікобактеріями, попередньо опсонізованими декомплементованою та свіжою аутосироваткою. З гепаринізованої крові хворого на одинарному (1,078) чи подвійному (1,090 та 1,078) градієнті щільності виділяли популяції нейтрофілоцитів та мононуклеарів, моношар фагоцитуючих клітин отримували шляхом їх адгезії до скла (інкубацією 50 мкл відповідної клітинної суспензії в робочій концентрації $1-2 \times 10^6$ /мл в 3-х лунках предметних скелець діаметром 5 мм у вологій камері при температурі 37°C протягом 10–15 хвилин для нейтрофілоцитів (Нф) і 60 хвилин для моноцитів (Мц), та наступного відмивання препаратів в

фосфатному буфері (pH=7,2). З сухої культури мікобактерій туберкульозу — тип *bovis* штам Calmete-Geurene (БЦЖ) готували робочу суспензію нативних мікобактерій (100 мкг на 1 мл поживного середовища 199 або розчину Хенксу) та суспензію мікобактерій, опсонізованих декомплементованою та свіжою аутосерваткою. Для опсонізації по 100 мкл суспензії БЦЖ в концентрації 1000 мкг/мл вміщували в 2 пробірки, в першу додавали 100 мкл аутосерватки, прогрітої 30 хвилин на водяній бані при температурі 56 °С (тобто декомплементованої), в другу — 100 мкл свіжої аутосерватки, інкубували протягом 60 хвилин при 37 °С при постійному (кожні 10 хвилин) перемішуванні. Після завершення опсонізації доводили суспензію мікобактерій поживним середовищем до робочої концентрації 100 мкг/мл. В лунки предметних скелець з моношаром адгерентних фагоцитуючих клітин вміщували по 50 мкл суспензії нативних та опсонізованих БЦЖ, відповідно, та інкубували у вологій камері 60 хвилин при 37 °С, після чого скельця промивали двічі в фосфатному буфері, висушували та фіксували метанолом. Фарбування отриманих в лунках скелець зафіксованих препаратів здійснювали в 2 етапи: на першому карболовим фуксином Циля, розведеним у 10 разів, протягом 4 хвилин фарбували мікобактерії, після чого скельця промивали послідовно водою та 96° етанолом і висушували. На другому етапі протягом 4 хвилин діамантовим зеленим дофарбовували фагоцитуючі клітини з подальшим послідовним промиванням препаратів у воді, етанолі, воді. (Здійснення фарбування мікобактерій фуксином без застосування кислот і підвищеної температури перешкоджає злучуванню фагоцитів з предметного скельця, а дофарбовування клітин саме діамантовим зеленим створює контрастний зелений фон, який дозволяє добре бачити малинові мікобактерії, що містяться внутрішньоклітинно).

Після остаточного висушування препаратів під масляною імерсією на світловому мікроскопі (при збільшенні $\times 500-900$), підраховували відсоток клітин, які містять внутрішньоклітинно нативні мікобактерії (показник інтенсивності поглинання нативних мікобактерій), відсоток

клітин, які містили мікобактерії, опсонізовані декомплементованою аутосерваткою (показник інтенсивності поглинання мікобактерій, опсонізованих антитілами) та відсоток клітин, які містили внутрішньоклітинно мікобактерії, опсонізовані свіжою аутосерваткою. Після цього розраховували показник інтенсивності поглинання мікобактерій, опсонізованих комплементом, який дорівнює різниці між двома останніми показниками.

В разі відхилення отриманих даних від нормальних показників інтенсивності поглинання фагоцитами крові нативних та опсонізованих антитілами та комплементом БЦЖ (табл. 1) для визначення можливих механізмів порушення цієї функції проводили додаткові імунологічні тести, вибір яких обґрунтовувався варіантом виявлених змін (табл. 2–4): для оцінки щільності експресії відповідних рецепторних структур частіше застосовували тести розеткоутворення фагоцитуючих клітин: антитілозалежного (ЕА-РУК) — для характеристики експресії Fc-рецепторів та комплементобумовленого (ЕАС-РУК) — для характеристики експресії рецепторів до компонентів комплементу. Титри протитуберкульозних антитіл визначали в реакції пасивної гемаглютинації (РПГА), вміст сироваточних імуноглобулінів А, М, G — методом преципітації в гелі за Mancini, рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) — в тесті преципітації в поліетиленгліколі за Hashkova, вміст комплементу оцінювали за 100 % гемолізом еритроцитів [11, 12]. Вміст В-лімфоцитів, Т-клітин та їх субпопуляційний склад визначали за допомогою моноклональних антитіл до відповідних лімфоцитарних антигенів (CD22, CD3, CD4, CD8).

Статистичну обробку отриманих даних проводили на персональному комп'ютері Pentium III за допомогою пакету прикладних програм Microsoft Excel з використанням критерію Ст'юдента та розрахунком вірогідності різниці при альтернативному варіюванні [4].

Результати та їх обговорення

Дослідження інтенсивності поглинання адгерентними фагоцитами нативних та опсонізованих БЦЖ у хворих на туберкульоз та хронічні неспецифічні захворювання

Таблиця 1

Інтенсивність поглинання нативних та опсонізованих БЦЖ у хворих на туберкульоз та неспецифічні захворювання легень

Обстежені		Інтенсивність поглинання нейтрофілоцитами				Інтенсивність поглинання моноцитами			
		Нативних BCG	Опсонізованих BCG			Нативних BCG	Опсонізованих BCG		
			свіжою аутосерваткою	Антитілами	комплемента		свіжою аутосерваткою	Антитілами	комплемента
Здорові особи (n=26)	Норма (M $\pm$ SD) M $\pm$ m	20,0–30,0 26,3 $\pm$ 2,3	65,0–80,0 69,8 $\pm$ 5,6	45,0–55,0 48,5 $\pm$ 2,5	20,0–25,0 21,8 $\pm$ 1,5	18,0–25,0 21,4 $\pm$ 2,8	45,0–65,0 49,8 $\pm$ 3,6	30,0–45,0 38,8 $\pm$ 4,3	15,0–20,0 17,9 $\pm$ 2,2
Хворі на туберкульоз легень (n=90)	Min–Max M $\pm$ m	7,0–59,0 27,0 $\pm$ 1,52	27,0–97,0 65,0 $\pm$ 2,4	16,0–56,0 37,0 $\pm$ 3,9*	4,0–60,0 26,9 $\pm$ 4,5	15,0–69,0 34,8 $\pm$ 4,6*	42,0–74,0 59,3 $\pm$ 3,4	24,0–63,0 38,8 $\pm$ 4,0	0,0–44,0 20,6 $\pm$ 4,3
Хворі на ХНЗЛ (n=36)	Min–Max M $\pm$ m	15,0–58,0 31,0 $\pm$ 2,8*	54,0–91,0 70,9 $\pm$ 2,8	13,0–42,0 26,3 $\pm$ 2,2*	25,0–64,0 44,6 $\pm$ 2,6*	9,0–34,0 19,8 $\pm$ 1,6	29,0–60,0 46,5 $\pm$ 2,1	11,0–29,0 18,7 $\pm$ 1,3*	11,0–49,0 29,4 $\pm$ 2,6*
Хворий Б-ка П. Н.		42,0	75,0	56,0	19,0	23,0	63,0	63,0	0
Хворий Ч-ка О. М.		11,0	76,0	16,0	60,0	21,0	70,0	26,0	44
Хворий Б-в М. В.		46,0	53,0	19,0	24,0	33,0	72,0	59,0	13
Хворий Д-н М. В.		24,0	54,0	14,0	40,0	9,0	38,0	13,0	25
Хвора Ат-ко Р. К		20,0	58,0	46,0	12,0	17,0	38,0	27,0	11

Примітки. 1. * — різниця показника в порівнянні з контролем вірогідна ($p < 0,05$);

2. ♦ — різниця показника в порівнянні з групою пацієнтів з туберкульозом легень вірогідна ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Додаткові імунологічні тести для визначення механізмів порушення здатності фагоцитуючих клітин до поглинання нативних МБТ

Поглинання фагоцитами нативних МБТ		Додаткові імунологічні тести та їх результат		
Напрямок змін	Механізми порушень	Визначення щільності рецепторів за допомогою антиманозних МКАТ	Визначення вмісту антиманозних антитіл в сироватці крові (ІФА)	Визначення туберкульозної антигенемії (ІФА, агрегатгемаглютинація [3])
↑	Посилення експресії фагоцитами манозних рецепторів	↑	—	—
↓	Пригнічення експресії фагоцитами манозних рецепторів	↓	N ↓	N ↓
↓	Блокування манозних рецепторів на фагоцитах антиманозними антитілами	↓	↑	N ↓
↓	Блокування манозних рецепторів на фагоцитах антигенами	↓	N ↓	↑

Примітки. N — норма; ↓ — зменшення, пригнічення; ↑ — збільшення, зростання.

Таблиця 3

Додаткові імунологічні тести для визначення механізмів порушення здатності фагоцитуючих клітин до поглинання МБТ, опсонізованих антитілами

Поглинання фагоцитами МБТ, опсонізованих антитілами		Додаткові імунологічні тести та їх результат			
Напрямок змін	Механізми порушень	Визначення щільності Fc-рецепторів за допомогою МКАТ або в тесті ЕА-розеткоутворення	Визначення вмісту протитуберкульозних антитіл в сироватці крові (ІФА, РПГА) та концентрації в ній сироваточних Ig A, Ig M, Ig G	Визначення рівнів ЦІК	Визначення вмісту В-клітин та Т-хелперів фенотипуванням лімфоцитів за допомогою МКАТ
↑	Посилення експресії фагоцитами Fc-рецепторів	↑	—	—	—
↓	Пригнічення експресії фагоцитами Fc-рецепторів	↓	N ↓	N ↓	N
↓	Блокування Fc-рецепторів фагоцитів ЦІК	↓	N ↓↑	↑	N ↑
↓	Блокування Fc-рецепторів фагоцитів надлишком антитіл	↓	↑↑↑	N ↓	N ↑
↓	Гальмування антитілоутворення	N ↑	↓↓↓	↓↓	↓↓

Примітки. N — норма; ↓ — зменшення, пригнічення; ↑ — збільшення, зростання.

Таблиця 4

Додаткові імунологічні тести для визначення механізмів порушення здатності фагоцитуючих до поглинання МБТ, опсонізованих комплементом

Поглинання фагоцитами МБТ, опсонізованих комплементом		Додаткові імунологічні тести та їх результат		
Напрямок змін	Механізми порушень	Визначення щільності C3-рецепторів за допомогою МКАТ або в тесті ЕАС-розеткоутворення	Визначення вмісту комплементу та його окремих компонентів в сироватці крові (ІФА, по 100 % гемолізу еритроцитів, преципітацією в гелі)	Визначення рівнів ЦІК
↑	Посилення експресії фагоцитами рецепторів до компонентів комплементу	↑	—	—
↓	Пригнічення експресії фагоцитами рецепторів до компонентів комплементу	↓	N	N ↓
↓	Блокування рецепторів до компонентів комплементу на фагоцитах	↓	N ↓	↑
↓	Дефіцит комплементу	↓	↑	N ↓

Примітки. N — норма; ↓ — зменшення, пригнічення; ↑ — збільшення, зростання.

легень виявило зміни здатності Нф до поглинання мікобактерій у 86 % хворих на туберкульоз та у всіх пацієнтів з ХНЗЛ ($p < 0,05$). Пригнічення інтенсивності поглинання мікобактерій нейтрофілоцитами мало місце у $(28,9 \pm 4,8)$ % хворих з туберкульозним процесом в легенях і у кожного десятого пацієнта з неспецифічним хронічним запаленням $((10,0 \pm 4,1)$ %; $p < 0,05$); зростання здатності нейтрофілів гранулоцитів до поглинання мікобактерій спостерігалось у $(15,6 \pm 3,8)$ % випадків при туберкульозі і в жодному випадку при ХНЗЛ ($p < 0,05$), а у решти обстежених обох груп $(31,1 \pm 4,9)$ % хворих на туберкульоз та $(90,0 \pm 4,9)$ % пацієнтів з ХНЗЛ) виявлені зміни мали змішаний характер: пригнічення одного із шляхів поглинання Нф мікобактерій та компенсаторна активізація інших (мал. 1).

Так, майже в усіх хворих на ХНЗЛ було виявлено зменшення інтенсивності поглинання нейтрофілоцитами мікобактерій, опсонізованих антитілами (мал. 2, табл. 1), яке в $(95,0 \pm 4,8)$ % випадків супроводжувалося активацією комплементобумовленого фагоцитозу і забезпечувало нормальний рівень опсонізованого фагоцитозу. У $(40 \pm 3,9)$ % цих осіб одночасно мало місце і посилення поглинання Нф нативних мікобактерій, що призводило до зростання середнього рівня цього показника (табл. 1). Зменшення інтенсивності поглинання нейтрофілоцитами нативних БЦЖ було зареєстровано лише у $(15 \pm 7,9)$ % хворих з цією патологією.

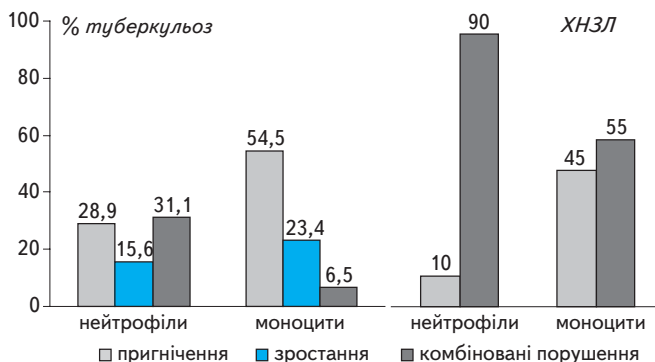
При запаленні туберкульозної етіології послаблення здатності Нф до поглинання нативних мікобактерій було виявлено у $(21,1 \pm 4,3)$ % хворих (мал. 2), посилення цієї функції — у $(27,8 \pm 4,7)$ % пацієнтів (різниця в порівнянні з групою хворих на ХНЗЛ вірогідна, $p < 0,05$). У решти осіб цієї групи вона не відрізнялася від контрольних значень. У $(45,9 \pm 5,1)$ % хворих на туберкульоз легень спостерігалось пригнічення поглинання опсонізованих мікобактерій переважно за рахунок гальмування антитілозалежного фагоцитозу (табл. 1), а зростання інтенсивності поглинання мікобактерій, опсонізованих комплементом, яке мало місце у $(60,3 \pm 6,9)$ % цих пацієнтів, виявилось недостатнім для повної компенсації та підтримання цієї функції на контрольному рівні (табл. 1).

При дослідженні інтенсивності поглинання адгерентними Мц нативних та опсонізованих БЦЖ у хворих на туберкульоз легень, її зміни були зафіксовані у $(84,4 \pm 4,1)$ % випадків: у $(54,5 \pm 5,7)$ % пацієнтів спостерігалось пригнічення поглинальної здатності моноцитів, у $(23,4 \pm 4,8)$ % визначено її активацію, і лише у $(6,5 \pm 2,8)$ % осіб виявлені зрушення мали змішаний характер. В той же час при ХНЗЛ нормальних показників не було зареєстровано в жодному випадку: у $(45,5 \pm 11,1)$ % пацієнтів інтенсивність поглинання нативних та опсонізованих БЦЖ моноцитами крові була зменшеною, а у решти обстежених $(55,5 \pm 11,1)$ % пригнічення одного із шляхів поглинання Нф мікобактерій супроводжувалося активізацією інших (мал. 1).

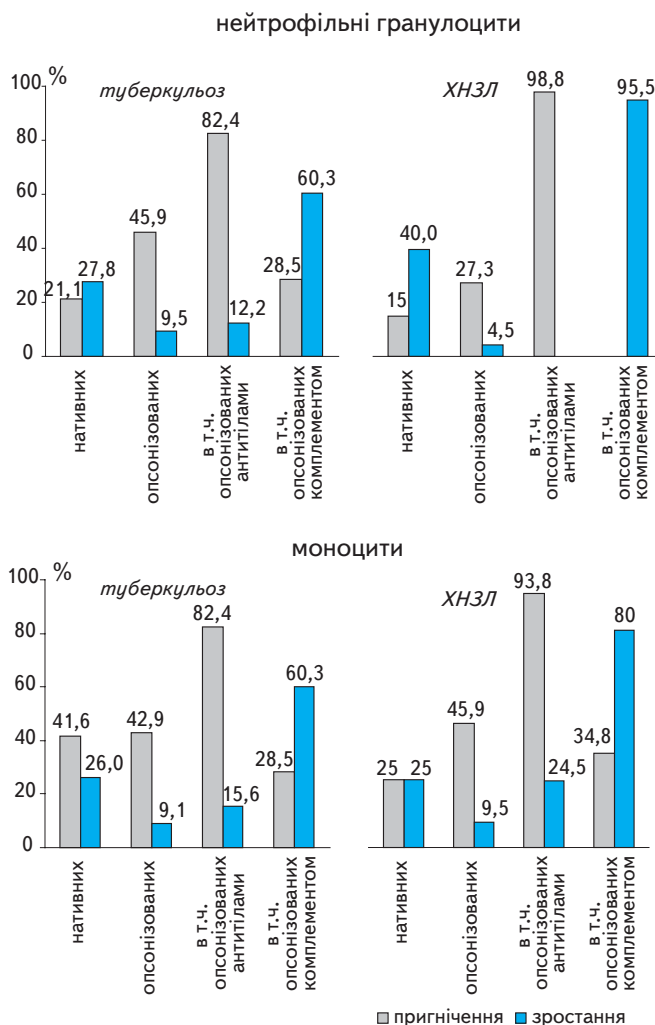
Так, у $(93,8 \pm 6,3)$ % хворих на ХНЗЛ було визначено зниження інтенсивності поглинання моноцитами мікобактерій, опсонізованих антитілами (мал. 2, табл. 1), яке у $(80,0 \pm 10,0)$ % цих пацієнтів супроводжувалося активацією комплементобумовленого фагоцитозу. Це забезпечувало достатній рівень опсонізованого фагоцитозу у $(60,0 \pm 12,2)$ % випадків, проте у кожного п'ятого пацієнта рівень цього показника залишався нижче контрольного (мал. 2). У $(25,0 \pm 9,7)$ % осіб цієї групи одночасно мало місце й пригнічення поглинання моноцитами нативних

мікобактерій. Зростання інтенсивності поглинання Мц нативних БЦЖ було зареєстровано у такої ж кількості хворих з хронічним неспецифічним запаленням бронхолегеневої системи $(25,0 \pm 9,7)$ %.

При хронічному запаленні легень туберкульозної етіології пригнічення здатності поглинання моноцитами нативних мікобактерій спостерігалось у $(41,6 \pm 5,6)$ % випадків, посилення цієї функції мало місце у $(26,0 \pm 5,0)$ % осіб, а у решти $(27,3 \pm 5,1)$ % пацієнтів інтенсивність пог-



Мал. 1. Частота та характер змін інтенсивності поглинання мікобактерій моноцитами та нейтрофілами хворих на туберкульоз та хронічні неспецифічні захворювання легень



Мал. 2. Частота та варіанти змін інтенсивності поглинання моноцитами та нейтрофілами нативних та опсонізованих мікобактерій у хворих на туберкульоз та хронічні неспецифічні захворювання легень

ливання моноцитами нативних БЦЖ сягала контрольних значень (мал. 2). У $(42,9 \pm 5,6) \%$ хворих на туберкульоз легень спостерігалось пригнічення поглинання мононуклеарними фагоцитами опсонізованих мікобактерій переважно за рахунок гальмування антитілозалежного фагоцитозу (мал. 2, табл. 1), а зростання у них інтенсивності поглинання мікобактерій, опсонізованих комплементом, було недостатнім для підтримання опсонізованого фагоцитозу мікобактерій на контрольному рівні.

Отже, отримані показники, що характеризують здатність фагоцитуючих клітин до поглинання ними мікобактерій, свідчать про різну спрямованість та виразність змін цієї функції у осіб з однією патологією, що підтверджує існування у них досить великої кількості механізмів та чинників, які посилюють або гальмують процес поглинання фагоцитами бактеріальних агентів і обумовлюють необхідність різної терапевтичної тактики.

Так, у пацієнта Б-ка П.Н. з інфільтративним туберкульозом легень при вивченні здатності Нф крові до поглинання нативних та опсонізованих БЦЖ було визначено підвищення інтенсивності поглинання нативних мікобактерій, що свідчило про посилення експресії манозних рецепторів на цих клітинах. Також було визначено, що у цього хворого поглинання Мц мікобактерій, опсонізованих декомплементованою сироваткою, відсутнє (табл. 1), тоді як поглинання мікобактерій, опсонізованих антитілами, збільшено майже втричі. Це свідчить про посилення експресії цими клітинами Fc-рецепторів і блокування комплементзалежного фагоцитозу або внаслідок недостатньої опсонізації комплементом через його нестачу, або внаслідок зменшення експресії рецепторів до компонентів комплементу через їх злушування при інтоксикації чи конкурентну взаємодію з ЦІК. Проведення відповідних додаткових імунологічних тестів (табл. 4) виявило в цьому випадку підвищений рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та зменшення у 4 рази вмісту комплементу в сироватці крові. Проте, виявилось, що інтенсивність поглинання нейтрофілоцитами БЦЖ, опсонізованих комплементом, від контролю не відрізнялася, отже, існуючої кількості комплементу для забезпечення опсонізації мікобактерій було достатньо (табл. 1). Таким чином, був зроблений висновок, що у цього хворого пригнічення комплементобумовленого фагоцитозу моноцитів обумовлено блокуванням моноцитарних рецепторів до компонентів комплементу циркулюючими імунними комплексами. Заходи, спрямовані на зменшення рівня ЦІК та детоксикацію організму, зокрема, призначення ентеросорбентів, можуть у даного хворого сприяти підвищенню ефективності лікування, але призначення йому стимуляторів фагоцитарної системи не показано.

У пацієнта Ч-ка О. М., хворого на вогнищевий туберкульоз, на відміну від попереднього хворого, зареєстровано пригнічення інтенсивності поглинання Нф нативних БЦЖ, а також зменшення інтенсивності поглинання Нф та Мц мікобактерій, опсонізованих декомплементованою ауосироваткою (тобто, антитілами). Це, на нашу думку, було також обумовлено блокуванням циркулюючими імунними комплексами манозних та Fc-рецепторів фагоцитуючих клітин (з огляду на те, що у хворого при додаткових тестах визначалося суттєве збільшення рівню ЦІК та зменшення експресії рецепторів до Fc-фрагменту Ig G в тесті ЕА-розеткоутворення, тоді як титри протитуберкульозних антитіл виявилися навіть збільшеними). Таким чином, підвищенню ефективності лікування в даному ви-

падку сприятимуть детоксикаційні терапевтичні заходи, зокрема ентеросорбція ентеросгелем, активованим вугіллям, поліфепаном, а також призначення гемодезу.

У хворого Д-на М.В. з діагнозом загострення хронічного обструктивного бронхіту також було зафіксовано низьку інтенсивність поглинання фагоцитуючими клітинами БЦЖ, опсонізованих антитілами, однак це було обумовлено гальмуванням антитілоутворення: в імунограмі виявлено зниження абсолютної кількості CD22+ лімфоцитів (В-клітин) та CD4+ лімфоцитів (Т-хелперів), зменшення рівнів сироваточних імуноглобулінів та ЦІК, а протитуберкульозні і гетерофільні антитіла не визначалися. У цього пацієнта також виявлялося суттєве пригнічення поглинання моноцитами нативних МБТ, що свідчило про пригнічення експресії цими клітинами манозних поверхневих рецепторів. Таким чином, зменшення здатності фагоцитуючих клітин до поглинання інфекційних агентів у даному випадку мало комплексний характер і могло виступати головним чинником зниження протиінфекційної резистентності. В лікуванні цього пацієнта доцільним буде призначення препаратів, спрямованих на стимуляцію Т- та В-системи імунітету (тималін, спленін), а при неефективності цих заходів — замісна терапія імуноглобулінами.

Порушення в системі комплементу (з огляду на дуже низький його вміст і невисокий рівень ЦІК в сироватці крові) у пацієнтки Ат-ко Р.К. з важким перебігом ХОБ призводило до пригнічення комплементобумовленого фагоцитозу і НФ, і Мц, що, вірогідно, й обумовлювало підтримання хронічного інфекційного процесу. Підвищенню ефективності лікування цієї хворої може сприяти лише замісна терапія, зокрема, свіжою донорською сироваткою.

Таким чином, вивчення інтенсивності поглинання Нф та Мц нативних і опсонізованих мікобактерій у хворих на туберкульоз легень показало, що при цьому захворюванні найчастіше спостерігається пригнічення антитілозалежного поглинання бактеріальних патогенів з компенсаторною активацією уроджених механізмів протиінфекційного захисту.

Хронічні неспецифічні захворювання легень також супроводжуються суттєвими змінами здатності фагоцитуючих клітин до поглинання бактеріальних інфекційних агентів: в цій групі обстежених спостерігається вірогідне пригнічення здатності Нф та Мц до поглинання мікобактерій, опсонізованих антитілами, що супроводжується компенсаторною активацією неспецифічних механізмів протиінфекційного захисту, а саме підвищення експресії манозних рецепторів та рецепторів до компонентів комплементу і посилення через це інтенсивності поглинання фагоцитуючими клітинами як нативних бактерій, так і бактерій, опсонізованих комплементом.

Гальмування антитілоутворення при легеневій патології зустрічається нечасто, а дефіцит комплементу був причиною порушень здатності фагоцитів до поглинання ними мікроорганізмів лише в поодиноких випадках.

З огляду на це, доцільним вважається широке застосування ентеросорбентів та проведення інших детоксикаційних заходів пацієнтам цього профілю (ентеросорбції активованим вугіллям, ентеросгелем, поліфепаном, рослинними препаратами), а в тяжких випадках — гемосорбції та плазмаферезу [2]. Проте, різний характер і спрямованість виявлених змін та механізмів, що їх викликають, не дозволяють використовувати єдину схему іму-

нокорекції у всіх хворих на туберкульоз та неспецифічні захворювання легень, а вимагають індивідуалізованого підходу в кожному конкретному випадку.

Висновки.

У хворих на туберкульоз та ХНЗЛ визначені різні варіанти порушення здатності фагоцитуючих клітин до поглинання бактеріальних патогенів. Найчастіше у пацієнтів із хронічними запальними захворюваннями бронхо-легеневої системи відбувається блокування Fc-рецепторів циркулюючими імунними комплексами та пригнічення антитілозалежного фагоцитозу з компенсаторною активацією неспецифічних механізмів протиінфекційного захисту. Тому, для підвищення ефективності лікування даного контингенту хворих доцільним вважається включення в комплексну терапію пацієнтів детоксикаційних заходів, в першу чергу ентеросорбентів.

Гальмування антитілоутворення зустрічається нечасто і переважно у осіб з важким комбінованим або тотальним імунodefіцитом, а ізольовані дефекти в системі комплементу виступають причиною зниження протиінфекційного захисту лише у поодиноких випадках.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Абелев Г. И.* Основы иммунитета // Соросовский Образовательный журнал. — 1996. — № 5. — С. 4–10.
2. *Абелев Г. И.* Воспаление // Соросовский Образовательный Журнал. — 1996. — № 10. — С. 28–32.
3. *Белкин А. Д.* Новые звенья в патогенезе хронических инфекций // Врач. — 1997. — № 7. — С. 40–41.
4. *Липич С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — Киев: Морион, 2000. — 320 с.
5. *Лебедев К. И., Понякина И. Д.* Иммунная недостаточность. Выявление и лечение. — Москва: Медкнига, 2003. — 443 с.
6. *Мешкова Р. Я.* Руководство по иммунопрофилактике для врачей. Иммунологические механизмы противоинфекционной защиты // Мешкова Р. Я. (n.d./2004). Руководство по иммунопрофилактике для врачей. [WWW document]. URL <http://www.iasmac.ru/books/immun/> (27 сентября 2004).
7. *Романова Р. Ю.* Определение туберкулезных антигенов реакцией агрегатгеммагглютинации // Методология фундаментальных исследований в гигиене окружающей среды. — Москва, 1989. — С. 52–56.
8. *Сидоренко С. В.* (n.d./2004). Место бактерий в живой природе // Инфекции и антимикробная терапия. — 2000. — Т. 2, № 2. [WWW document]. URL <http://www.consilium-medicum.com/media/infektion/> (17 сентября 2004).
9. *Фещенко Ю. И., Петренко В. М., Черенько С. О.* Ефективність хіміотерапії хворих з полірезистентним туберкульозом легень // Укр. хіміотерапевт. журн. — 2000. — № 1. — С. 9–14.
10. *Фещенко Ю. И., Мельник В. М.* Туберкульоз легень в період епідемії: епідеміологічні, клініко-діагностичні та організаційні аспекти. — Київ: Логос, 1998. — 248 с.
11. *Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения: Метод. рекомендации* / Киевский НИИ фтизиатрии и пульмонологии. — Киев, 1988. — 18 с.
12. *Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Истамов Х. И.* Экологическая иммунология. — Москва: ВНИРО, 1995. — 219 с.

13. *Чернушенко К. Ф.* Протитуберкулезный иммунитет // Лаб. диагностика. — 2001. — № 2. — С. 3–7.
14. *Zimmerli S., Edwards S., Ernst J.D.* Selective receptor blockade during phagocytosis does not alter the survival and growth of *Mycobacterium tuberculosis* in human macrophages // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. — 1996. — № 6. — P. 760–770.

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПОГЛИНАННЯ НАТИВНИХ ТА ОПСОНІЗОВАНИХ МІКОБАКТЕРІЙ ФАГОЦИТУЮЧИМИ КЛІТИНАМИ IN VITRO У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ТА ХРОНІЧНІ НЕСПЕЦИФІЧНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

*І. Ф. Ільїнська, О. М. Рекалова,
Л. В. Ареф'єва, Ю. О. Матвієнко*

Резюме

Проведена одночасна оцінка інтенсивності поглинання нейтрофілоцитами і моноцитами крові нативних і опсонізованих антитілами і комплементом мікобактерій для визначення частоти варіантів і можливих механізмів порушення цієї функції у пацієнтів з туберкульозом легень і ХНЗЛ. Встановлено, що у цих хворих часто виникає блокування Fc-рецепторів циркулюючими імунними комплексами, що приводять до пригнічення антитілозалежного шляху поглинання бактеріальних патогенів, що супроводжується компенсаторною активацією неспецифічних механізмів. З метою підвищення ефективності лікування цих хворих доцільним є включення до комплексної терапії методів детоксикації, в тому числі ентеросорбентів. Пригнічення антитілоутворення у цих пацієнтів спостерігалось нечасто — головним чином у осіб з тяжким комбінованим або тотальним імунodefіцитом, а ізольовані дефекти в системі комплементу були причиною зниження протиінфекційної резистентності лише в поодиноких випадках.

INTENSITY OF ABSORPTION OF NATIVE AND OPSONIZED MYCOBACTERIA BY PHAGOCYTES IN VITRO IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS AND CHRONIC NONSPECIFIC PULMONARY DISEASES

*I. F. Ilynskaya, E. M. Rekalova,
L. V. Arefyeva, Yu. O. Matvienko*

Summary

The simultaneous estimation of intensity of absorption by the blood neutrophilocytes and monocytes of native *Mycobacterium* and *Mycobacterium*, opsonized by antibodies and complement, was conducted in order to detect the frequency, variants and probable mechanisms of this function disturbance in tuberculosis and chronic nonspecific pulmonary diseases patients. It was found that the patients with pulmonary tuberculosis and chronic nonspecific pulmonary diseases often have Fc-receptors blocked by circulating immune complexes, which caused the depressing of antibody dependent way of bacterial pathogen absorption, and a compensatory activation of non-specific absorption mechanisms. To raise the treatment efficiency of this category of patients the application of detoxication method (including enterosorbition) was recommended. Inhibition of antibody synthesis in these patients was infrequent phenomenon: predominantly in persons with a significant combined or total immunity deficiency. The isolated defects in a complement system as a cause of an anti-infectious resistance decrease was detected only in single cases.