

ВАРИАНТЫ ГИБЕЛИ КЛЕТОК МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

© 2019 г. С. В. Зиновьев*, Н. Г. Плехова, Н. М. Кондрашова

*E-mail: Sinowev@mail.ru

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,
Владивосток, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 14.03.2019

Проведено морфологическое и цитохимическое исследование окислительного метаболизма клеток бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) пациентов с различной степенью тяжести хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Установлено, что наряду с некрозом клеток определяется энуклеация гранулоцитов и макрофагов, что относится к морфологическому признаку программируемой гибели путем образования внеклеточных ловушек – НЕТозов. Доказана корреляция между показателями НЕТозов, изменением окислительного метаболизма клеток и тяжестью течения ХОБЛ.

Ключевые слова: гибель клеток, бронхоальвеолярный лаваж, хроническая обструктивная болезнь легких

DOI: 10.31857/S102872210006703-8

Адрес: 690002 Владивосток, ул. Острякова д. 4, ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Зиновьев С. В.

Тел.: +7(914) 6726953 (моб.).

E-mail: Sinowev@mail.ru

Авторы:

Зиновьев С. В., к.м.н., старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО ТГМУ «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Плехова Н. Г., д.б.н., заведующая Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО ТГМУ «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Кондрашова Н. М., к.м.н., доцент института терапии и инструментальной диагностики ФГБОУ ВО ТГМУ «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

На настоящий момент эксперты международного номенклатурного комитета (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD) предлагают следующие подтипы гибели клеток: случайная гибель клеток или некроз (accidental cell death, ACD), при которой определяется необратимое разрушение структурной целостности; генетически кодируемый вариант – ре-

гулируемая клеточная смерть (regulated cell death, RCD) и вариант регулируемой клеточной смерти в рамках эмбриогенеза или сохранения физиологического гомеостаза ткани взрослых организмов – программируемая смерть клеток (ПСК). К последнему подтипу, согласно последней классификации, относят 12 видов (4 основных и 8 дополнительных) из которых наиболее распространенные апоптоз, аутофагия, кератинизация и нетипичные варианты: аноиксис, параптоз, пироптоз, пиронекроз, фагоптоз, НЕТоз (нейтрофильные внеклеточные ловушки, Neutrophil Extracellular Traps, NETs) и другие [1]. Морфологическая структура ловушки – НЕТоза представлена сетью, сформированной из ДНК, гистонов и антимикробных белков нейтрофилов. Показано, наличие таких структур в дыхательных путях у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), но их клиническая и патофизиологическая роль не установлена [2].

Цель настоящего исследования – провести морфофункциональную оценку вариантов гибели клеток врожденного иммунитета у пациентов с ХОБЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 80 пациентов в фазу обострения ХОБЛ. Степень тяжести заболевания оценивали согласно принятым стандартам и распределяли по следующим категориям: легкая (GOLD1); средняя (GOLD2); тяжелая (GOLD3); крайне тяжелая (GOLD4) [3]. В содержимом бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) проводили оценку общего цитоза в 1 мкл жидкости и морфологическую цитометрию, с определением вариантов гибели клеток в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза. Данные выражали в виде индекса деструкции клеток и индекса цитолиза клеток. В клетках определяли содержание фосфолипидов (окрашивание щелочным суданом черным Б), активность миелопероксидазы (метод Грэхема-Кнолля) и спонтанный НСТ-тест проводили согласно методу Виксмана М. Е. с соавт.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование клеточного состава БАЛ пациентов с ХОБЛ показало слизисто-гнойный вариант воспаления. В мазках помимо лейкоцитов отмечались кластеры клеток бронхиального эпителия – тельца Креола, и парциальный вес эозинофилов относительно всех клеток не превышал 5%. При сравнении групп пациентов с различной тяжестью ХОБЛ в БАЛ отмечалось значимое различие показателей цитоза (контроль $0,67 \pm 0,025 \times 10^3$ /мкл, тяжелое течение $0,996 \pm 0,072 \times 10^3$ /мкл; $p < 0,01$) и повышенное содержание нейтрофилов (контроль $41,2 \pm 1,428\%$, тяжелое течение $54,0 \pm 2,049\%$, $p < 0,01$). При цитоморфологическом исследовании БАЛ обнаружена тенденция к деструкции клеток врожденного иммунитета причем, повышенное содержание некротически измененных нейтрофилов наблюдалось у пациентов с тяжелым течением ХОБЛ. Наряду с некрозом, определялась энуклеация гранулоцитов и макрофагов, что относится к морфологическому признаку к варианту НЕТ-оза, для которого характерно разрушение цитоплазмы и перемещение значительной части хроматина за пределы плазмалеммы. Показатели деструкции клеток и НЕТ-оза (энуклеации) лейкоцитов коррелировали с цитохимическими показателями окислительно-метаболизма. При средней степени тяжести ХОБЛ отмечалась высокая функциональная активность макрофагов, СЦК НСТ-теста при средней степени тяжести составил $2,8 \pm 0,152$, что отличалось от показателей для здоровых лиц

$2,08 \pm 0,058$ ($p < 0,01$), напротив, при тяжелом течении ХОБЛ, обнаружено снижение бактерицидной активности нейтрофилов, о чем свидетельствовали низкие показатели НСТ-теста $1,6 \pm 0,071$ ($p < 0,05$). Подобные показатели были получены при изучении активности миелопероксидазы и содержания фосфолипидов в нейтрофилах и макрофагах. Причем, в БАЛ у 20% пациентов в цитоплазме альвеолярных макрофагов выявлялась слабая или умеренная реакция на содержание миелопероксидазы.

Таким образом, согласно полученным нами данным, гибель лейкоцитов в бронхиальном секрете помимо некроза, осуществляется по типу НЕТ-оза. Отмечается прямая связь между показателями НЕТ-оза в БАЛ и степенью тяжести ХОБЛ, оцененной с использованием комплексной глобальной инициативы по шкале ХОБЛ ($p < 0001$). Отмечалась корреляция между повышением показателей комплексов НЕТ-озов и симптомами, оцененными согласно тесту ХОБЛ, у пациентов с частыми обострениями ($p = 0,002$). При тяжелом течении ХОБЛ в БАЛ на фоне снижения функциональных резервов клеток отмечалось повышенное содержание НЕТ-озов лейкоцитов, что указывало на несостоятельность бактерицидной активности клеток. Результаты исследования подтверждают данные других авторов об участии фермента NADPH оксидазы в качестве кофактора НЕТ-оза [4]. Нельзя исключать, что эти данные отражают роль геминных белков в развитии гибели клеток, что подтверждает исследование цитохромов в развитии апоптоза и других форм гибели клеток. Повышение формирования НЕТ-озов в дыхательных путях может оказывать влияние на повреждение окружающих тканей, вызывая гибель эпителиальных и эндотелиальных клеток и приводя, таким образом, к нарушению функции легких и ускорению развития заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Galluzzi L., Maiuri M. C., Vitale I., Zischka H., Castedo M., Zitvogel L., Kroemer G. Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death Differ.* 2007, 14(7):1237–43.
2. Wright T. K., Gibson P. G., Simpson J. L., McDonald V. M., Wood L. G., Baines K. J. Neutrophil extracellular traps are associated with inflammation in chronic airway disease // *Respirology.* 2016 Apr;21(3):467–75.
3. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2014 г.) / Пер с англ. Под ред. А. С. Белевского. М.: Российское респираторное общество, 2014:92.

4. Khan M. A., Philip L. M., Cheung G., Vadakepeedika S., Grasemann H., Sweezey N., Palaniyar N. Front Med (Lau-
sanne). Regulating NETosis: Increasing pH Promotes NADPH Oxidase-Dependent NETosis. 2018; 5:19.

THE VARIANTS OF DEATH INNATE IMMUNITY CELLS IN CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE OBSTRUCTIVE LUNG

© 2019 S. V. Zinoviev*, N. G. Plekhova, N. M. Kondrashova

*E-mail: Sinowev@mail.ru

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 14.03.2019

A morphological and cytochemical study of the oxidative metabolism of cells bronchoalveolar lavage (BAL) patients with varying degrees of severity chronic obstructive pulmonary disease (COPD) was studied. It was established that along with cell necrosis, enucleation of granulocytes and macrophages is determined, which refers to the morphological feature of programmed death by the formation of extracellular traps – NET-osis. Proven correlation between indicators of netosis, changes in the oxidative metabolism of cells and the degrees of severity of COPD.

Key words: cell death, bronchoalveolar lavage, chronic obstructive pulmonary disease

Authors:

Zinoviev S. V., ☒ PhD, Senior Researcher, of the Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok Russia.

E-mail: Sinowev@mail.ru;

Plekhova N. G., Dr, Head of the Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok Russia;

Kondrashova N. M., PhD, assistant professor at the Institute of Therapy and Instrumental Diagnostics, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia.